

Protocolos genéricos para
1) la vigilancia hospitalaria dirigida al cálculo de la carga
de la gastroenteritis por rotavirus en niños, y
2) una encuesta comunitaria sobre la utilización de servicios
de atención de salud para la gastroenteritis en niños

Versión de prueba sobre el terreno



OMS

Vacunas y Productos Biológicos
Organización Mundial de la Salud

El Departamento de Vacunas y Productos Biológicos agradece a los donantes cuyo apoyo financiero no especificado ha permitido la producción de este documento.

El equipo de Evaluación y Vigilancia de Vacunas del Departamento de Vacunas y Productos Biológicos produjo el presente documento.

Código de pedido: WHO/V&B/02.15
Impreso en noviembre de 2002

Este documento está disponible en la Internet en:
www.who.int/vaccines-documents/

Pueden obtenerse ejemplares de:
Organización Mundial de la Salud
Departamento de Vacunas y Productos Biológicos
CH-1211 Genève 27, Suiza
• Fax: + 41 22 791 4227 • Correo electrónico: vaccines@who.int •

© Organización Mundial de la Salud 2002

Todos los derechos reservados. Las publicaciones de la Organización Mundial de la Salud pueden solicitarse a: Comercialización y difusión, Organización Mundial de la Salud, 20 Avenue Appia, 1211 Ginebra 27, Suiza (tel.: +41 22 791 2476; fax: +41 22 791 4857; correo electrónico: bookorders@who.int). Las solicitudes de autorización para reproducir o traducir las publicaciones de la OMS —ya sea para la venta o para la distribución sin fines comerciales— deben dirigirse a la Oficina de Publicaciones, en la dirección precitada (fax: +41 22 791 4806; correo electrónico: permissions@who.int).

Las denominaciones empleadas en esta publicación y la forma en que aparecen presentados los datos que contiene no implican, por parte de la Organización Mundial de la Salud, juicio alguno sobre la condición jurídica de países, territorios, ciudades o zonas, o de sus autoridades, ni respecto del trazado de sus fronteras o límites. Las líneas discontinuas de los mapas representan de manera aproximada fronteras respecto de las cuales puede que no haya pleno acuerdo.

Los autores nombrados son responsables de sus opiniones expresadas en esta publicación.

La mención de determinadas sociedades mercantiles o del nombre comercial de ciertos productos no implica que la Organización Mundial de la Salud los apruebe o recomiende con preferencia a otros análogos. Salvo error u omisión, las denominaciones de productos patentados llevan letra inicial mayúscula.

La Organización Mundial de la Salud no garantiza que la información contenida en la presente publicación sea completa y correcta. La Organización no podrá ser considerada responsable de los daños que pudiere ocasionar la utilización de los datos.

Índice

Prefacio

Agradecimientos

Parte I: Protocolo genérico para la vigilancia hospitalaria dirigida al cálculo de la carga de la gastroenteritis por rotavirus en niños menores de 5 años de edad

1. Introducción
2. Objetivos
3. Selección de la población objeto de vigilancia
4. Vigilancia de las hospitalizaciones asociadas con el rotavirus en niños menores de 5 años de edad
5. Vigilancia y caracterización de cepas
6. Otros temas

Referencias

Anexo 1: Ejemplos de formularios de datos para el análisis de estudios anteriores sobre la diarrea por rotavirus

Anexo 2: Formulario del informe de un caso de diarrea

Anexo 3: Libro de registro de muestras de heces

Anexo 4: Vigilancia de laboratorio centinela regional del rotavirus

Parte II: Protocolo genérico para una encuesta comunitaria sobre la utilización de los servicios de atención de salud para la gastroenteritis en niños menores de 5 años de edad

1. Introducción
2. Objetivos
3. Métodos
4. Resultados y análisis de los datos

5. Puntos que se deben considerar al planificar la encuesta

Referencias

Anexo 1: Cuestionario sobre la utilización de servicios de atención de salud para la gastroenteritis en un niño menor de 5 años de edad

Anexo 2: Cálculos del tamaño de la muestra

Anexo 3: Cuadro de números aleatorios

Prefacio

El Departamento de Vacunas y Productos Biológicos de la OMS ha participado por muchos años en la investigación sobre la diarrea por rotavirus. Se están probando sobre el terreno varias vacunas antirrotavíricas posibles, algunas en estudios patrocinados por la OMS. Se espera que una o varias de estas vacunas estén disponibles en los próximos años. El presente documento se ha elaborado para que los países puedan obtener datos sobre la carga de morbilidad local atribuible a la infección por rotavirus en niños pequeños. Tal información se necesitará en el futuro cuando los países consideren la introducción de la vacuna antirrotavírica.

El presente documento fue copatrocinado por el Comité Directivo del Departamento de Vacunas y Productos Biológicos sobre Enfermedades Diarreicas y el Comité Directivo del Departamento de Vacunas y Productos Biológicos sobre Epidemiología e Investigación sobre el Terreno. La parte I del documento contiene un protocolo genérico para la vigilancia hospitalaria de la gastroenteritis pediátrica por rotavirus. La elaboraron científicos de diversos países, con el liderazgo del Centro Colaborador de la OMS para Rotavirus y los Agentes de la Gastroenteritis Vírica ubicado en los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos. La parte II del documento contiene un protocolo genérico para una encuesta sobre la utilización de servicios de atención de salud para la gastroenteritis pediátrica. Esta encuesta permitirá a los investigadores determinar si ciertos hospitales son apropiados para el estudio de vigilancia hospitalaria, y también proporcionará datos para ajustar los resultados hospitalarios y representar mejor la carga de morbilidad de la gastroenteritis pediátrica por rotavirus en toda la población.

Cada uno de los dos protocolos genéricos proporciona orientación sobre los procedimientos principales y también propone formularios para la recopilación de datos. Sin embargo, cada protocolo debe adaptarse a la situación local. Por lo tanto, los investigadores locales con experiencia en la realización de estudios de enfermedades diarreicas deben agregar detalles relativos al trabajo sobre el terreno y a los procedimientos operacionales.

La OMS proporciona estos protocolos genéricos gratuitamente. A cambio de ello, la División de Vacunas y Productos Biológicos agradecería recibir información acerca de los estudios en los que se usen dichos protocolos. Además, este documento debe mencionarse como referencia en cualquier publicación que se produzca usando los protocolos.

Las observaciones o sugerencias para mejorar estos protocolos genéricos son bienvenidas y pueden enviarse al Departamento de Vacunas y Productos Biológicos, Organización Mundial de la Salud, CH-1211 Ginebra 27, Suiza.

Agradecimientos

Las siguientes personas tuvieron la gentileza de examinar el presente documento y formularon observaciones útiles al respecto durante su elaboración:

John V. Bennett, Ruth Bishop, Maureen Birmingham, Redda T. Haimanot, Paul Kilgore, F. Marc LaForce, Thea K. Fisher Perch, Susan E. Robertson, Lorenz von Seidlein, Sriluck Simasathien, Duncan Steele, Chris Wolff y Timo Vesikari.

Parte I:
**Protocolo genérico para la vigilancia hospitalaria dirigida
al cálculo de la carga de la gastroenteritis
por rotavirus en niños menores de 5 años de edad**

Joseph Bresee, Umesh Parashar, Robert Holman, Jon Gentsch, y Roger Glass
Centro Colaborador de la OMS para Rotavirus y los Agentes de la Gastroenteritis Vírica
Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, Atlanta, EUA

Bernard Ivanoff
Departamento de Vacunas y Productos Biológicos,
Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza

Alexandre da Costa Linhares
Instituto Evandro Chagas, FUNASA, Belem, Brasil

Kare Molbak
Statens Serum Institut, Copenhagen, Dinamarca

1. Introducción

Los rotavirus son la causa más común de gastroenteritis y deshidratación graves en los niños pequeños de los países industrializados y los países en desarrollo. Un análisis patrocinado por la OMS de estudios relativos al rotavirus reveló que 20-70% de las hospitalizaciones y 20% de las defunciones por diarrea fueron atribuibles al rotavirus (*De Zoysa y Feachem 1985*). Estudios recientes han calculado que entre 500 000 y 600 000 niños mueren cada año a causa de la gastroenteritis por rotavirus (*Miller y McCann 2000, Molbak et al. 2001*). En respuesta a esta carga de morbilidad, se han elaborado o se están elaborando varias vacunas contra el rotavirus (*Bresee et al. 1999*). Sin embargo, en muchos países la carga de morbilidad y la epidemiología de las infecciones por el rotavirus se desconocen debido a la ausencia de datos adecuados o porque no se ha realizado ningún estudio recientemente. La falta de datos es particularmente notable en los países en desarrollo. La disponibilidad prevista de una vacuna eficaz destaca la necesidad de nuevos datos sobre la carga de morbilidad de la infección por el rotavirus en los países en desarrollo, donde la morbilidad y la mortalidad asociadas con este virus son altas.

La finalidad de este protocolo genérico es presentar detalladamente un método para la vigilancia hospitalaria de la gastroenteritis por rotavirus en niños menores de 5 años de edad. Los datos recopilados en tales estudios deben permitir a los investigadores resumir las características locales epidemiológicas y virológicas del rotavirus y hacer cálculos de la carga de morbilidad en las poblaciones objeto de vigilancia. El protocolo está concebido como una guía para ministerios de salud, funcionarios de salud e investigadores locales, a fin de facilitar tales estudios. Los datos generados han de ser útiles para los formuladores de políticas que tratan de determinar la necesidad de vacunación contra el rotavirus en sus países.

1.1 Características clínicas de la diarrea por rotavirus

Las infecciones rotavíricas causan gastroenteritis aguda, que se caracteriza por la aparición aguda de diarrea acuosa, fiebre y vómitos (*Linhares et al. 1983, Mata et al. 1983a, Rodriguez et al. 1977, Zaki et al. 1986*). La diarrea persiste generalmente durante 3-8 días y remite espontáneamente (*Bass y Greenberg 1995, Black et al. 1989, Mata et al. 1983b, Wyatt et al. 1979*). Sin embargo, se ha documentado que la diarrea puede durar hasta 22 días (*Wyatt et al. 1979*) y en los lactantes su duración puede ser más larga que en los niños mayores (*Black et al. 1982a*). La fiebre y los vómitos son sumamente fuertes durante los primeros días de la enfermedad. Con mayor frecuencia, las infecciones rotavíricas son más graves que otras causas comunes de diarrea y tienen más probabilidades de acompañarse de deshidratación (*Black et al. 1982b, Rodriguez et al. 1977 y 1985, Zaki et al. 1986*) y hospitalización (*Brandt et al. 1983*). Por consiguiente, la proporción de niños hospitalizados por diarrea por rotavirus generalmente es mayor que la proporción registrada en la comunidad o en los consultorios de pacientes ambulatorios (*Bhan et al. 1988, Black et al. 1982a, Cunliffe et al. 2001*).

Muchas infecciones rotavíricas son asintomáticas, particularmente en los lactantes menores de 3 meses de edad, los niños mayores y los adultos (*Abiodun et al. 1985, Araya et al. 1986, Black et al. 1989, Champsaur et al. 1984, Cravioto et al. 1990, Georges-Courbot et al. 1988, Linhares et al. 1989, Losonsky y Reymann 1990, Mata et al. 1983b, Schorling et al. 1990, Simhon et al. 1985*). La proporción alta de infecciones asintomáticas en los recién nacidos y los lactantes de corta edad no se ha explicado claramente. La presencia de anticuerpos maternos y la inmadurez fisiológica de los intestinos del recién nacido pueden tener algo que ver (*Hoshino et al. 1985*). La inmunidad de las exposiciones repetidas al rotavirus probablemente resulte de la razón alta entre infección y enfermedad en los niños mayores y los adultos. Las infecciones rotavíricas pueden conducir a enfermedad grave (*Kapikian y Chanock 1990, Wood et al. 1988, Yolken et al. 1982*) y excreción prolongada del virus (*Eiden et al. 1985, Hundley et al. 1987, Oishi et al. 1991, Pedley et al. 1984*) en las personas inmunocomprometidas. Sin embargo, un estudio reciente ha indicado que los niños de Malawi con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) no contraen más enfermedades graves ni excretan el virus por más tiempo que los niños que son negativos frente al VIH (*Cunliffe et al. 2001*).

1.2 Carga de la enfermedad rotavírica

En un análisis efectuado en 1985, se calculó que los rotavirus representaban 20-70% de los casos hospitalizados por diarrea y 20% de las defunciones por diarrea en los niños menores de 5 años de edad en todo el mundo (*De Zoysa y Feachem 1985*). En 1986, se calculó que 130 millones de niños habían contraído diarrea causada por rotavirus cada año, de los cuales 18 millones experimentaron deshidratación moderada o grave que dio lugar a 873 000 defunciones (*United States Institute of Medicine 1986*). Los cálculos moderados recientes han indicado que entre 500 000 y 600 000 niños mueren cada año por enfermedad rotavírica (*Miller y McCann 2000, Molbak et al. 2001*) y que hasta 85% de estas defunciones ocurren en los países de bajos ingresos según la definición del Banco Mundial (*Miller y McCann 2000*). Un análisis de los estudios epidemiológicos realizados en los países en desarrollo observó que el rotavirus representaba aproximadamente 6% de los episodios diarreicos, una mediana de 28% de las visitas a servicios ambulatorios o al consultorio por diarrea y 34% de las hospitalizaciones por diarrea en niños pequeños (*De Zoysa y Feachem 1985*). Análisis y estudios más recientes de los países en desarrollo han registrado resultados similares (*Cook et al. 1990, Cunliffe et al. 1998 y 2001, Van Man et al. 2001*).

Las tasas de hospitalización son muy variables, entre los países desarrollados y los países en desarrollo, y entre los países con niveles de ingresos similares (cuadro 1). Los datos limitados de los países en desarrollo indican que las tasas de enfermedades graves, es decir, las hospitalizaciones, tienen probabilidades de ser más elevadas que en los países desarrollados.

Cuadro 1. Incidencia anual de hospitalizaciones atribuibles a la gastroenteritis por rotavirus en niños menores de 5 años de edad en 12 países

País	Años	Referencia	Incidencia anual por 100 000 niños menores de 5 años de edad	Riesgo de hospitalización por niño a la edad de 5 años
España	1989-1995	Visser et al., 1999	250	1:80
Países Bajos	1998	De Wit et al. 2000	270	1:74
EUA	1993-1995	Parashar et al. 1997	274*	-
Polonia	1996	Mrukowicz et al. 1999	310	1:65
Suecia	1993-1996	Johansen et al. 1999	370**	-
Reino Unido	1993-1994	Ryan et al. 1996	520	1:39
Finlandia	1985-1995	Vesikari et al. 1999	610	1:33
Argentina	1991	Gomez et al. 1998	645	1:31
Australia	1993-1996	Carlin et al. 1998	750	1:27
Hungría	1993-1996	Szucs et al. 1999	840**	-
Australia	1991-1993	Ferson 1996	870	1:23
Irlanda	1997-1998	Lynch et al. 2001	1080	1:19
Venezuela	1990	Perez-Schael et al. 1997	3000***	-

* Incidencia derivada de datos relativos a la diarrea por todas las causas.

** Incidencia relativa a los niños menores de 4 años de edad.

*** Incidencia relativa a los niños menores de 2 años de edad.

1.3 Epidemiología del rotavirus

Casi todos los niños se infectan con el rotavirus en la primera infancia. En estudios prospectivos comunitarios de cohortes realizados en países en desarrollo, la incidencia de la diarrea por rotavirus en los niños pequeños ha variado entre 0,07 y 0,8 episodios por niño por año y casi todos los niños han sufrido por lo menos un episodio de diarrea por rotavirus a la edad de 24 meses (*Black et al. 1982a, Grinstein et al. 1989, Kantharidis et al. 1987, Linhares et al. 1989, Oishi 1985, Reves et al. 1989, Simhon et al. 1985, Zaki et al. 1986*). En los países en desarrollo, 65-80% de los niños tienen anticuerpos contra el rotavirus a la edad de 12 meses y 95% han sido infectados a la edad de 24 meses. En general, los niños infectados por rotavirus durante los 3 primeros meses de vida son asintomáticos, mientras que los que se infectan por primera vez después de 3 meses de edad generalmente presentan síntomas. Dado que la infección natural confiere cierta inmunidad contra la enfermedad en exposiciones posteriores y que esta protección aumenta con cada exposición posterior, las tasas más altas de la enfermedad rotavírica ocurren entre los 3 meses y los 2 años de edad (*Velazquez et al. 1996*). La incidencia de la enfermedad sintomática disminuye rápidamente después de los 24 meses de edad en la mayoría de los entornos.

En los países desarrollados, 80% de los niños sufren diarrea por rotavirus en los primeros 3 años de vida (*Gurwith et al. 1981, Rodriguez et al. 1987*) y las tasas más altas de la enfermedad ocurren durante el segundo año. No obstante, en muchos países en desarrollo las tasas más altas de la enfermedad ocurren en los niños de 6-11 meses de edad. En algunos países en desarrollo es común que los recién nacidos contraigan infecciones rotavíricas nosocomiales, que ocurren generalmente sin síntomas (*Kilgore et al. 1996, Omoignemale y Abiodun 1995, Perez-Schael et al. 1984, Sukumaran et al. 1992*). En la India, las infecciones rotavíricas se han documentado en 40-50% de los recién nacidos hospitalizados durante tres días o más (*Cicirello et al. 1994*). Puesto que los niños con infecciones neonatales pueden estar protegidos contra la enfermedad grave posterior, las tasas altas de infección neonatal pueden influir en los resultados de los estudios de eficacia de la vacuna en algunos países en desarrollo.

En climas templados, la diarrea por rotavirus es predominantemente una enfermedad de invierno y ocurren pocos casos o no ocurre ningún caso fuera del punto máximo estacional (*Ho et al. 1988, LeBaron et al. 1990, Ryan et al. 1996*). En algunos países tropicales hay puntos máximos estacionales (*Molbak et al. 2001, Sitbon et al. 1985*), pero en muchos de esos países ocurre diarrea por rotavirus a lo largo del año y no tienen ningún punto máximo estacional o tienen pequeños puntos máximos solamente (*Cook et al. 1990, Cunliffe et al. 1998*).

Cuadro 2. Características clave de la epidemiología del rotavirus

- Casi todos los niños se infectan con el rotavirus en la primera infancia.
- Las primeras infecciones que ocurren después de 3 meses de edad comúnmente se acompañan de diarrea.
- Las infecciones repetidas son asintomáticas o se acompañan de diarrea leve, lo cual indica que la inmunidad se adquiere y protege contra la enfermedad grave recurrente.
- La incidencia de diarrea por rotavirus es similar en los niños de los países desarrollados y en desarrollo. Por consiguiente, los intentos de controlar la infección al mejorar el agua o los alimentos tienen pocas probabilidades de cambiar la incidencia de la infección (*Bresee et al. 1999*)
- Los seres humanos parecen ser el reservorio principal de las infecciones rotavíricas. Los modos exactos de transmisión se desconocen pero se cree que consisten en la propagación mediante gotitas o contacto directo fecal-oral.

1.4 Características virológicas

Los rotavirus son virus de 100 nm que tienen una estructura característica en forma de rueda (rota) y pertenecen a la familia Reoviridae. El virus tiene tres cubiertas: una cápside exterior, una cápside interna y un núcleo. Estos rodean 11 segmentos de ARN bicatenario, que codifican seis proteínas estructurales (VP1-VP4, VP6, VP7) y cinco proteínas no estructurales (NSP1-NSP5). Dos proteínas estructurales, VP7 (glucoproteína o proteína G) y VP4 (proteína dividida por la proteasa o proteína P), constituyen la capa exterior y se consideran importantes para la elaboración de vacunas ya que definen el serotipo del virus y son los antígenos principales que participan en la neutralización vírica (*Prasad et al. 1990, Yeager et al. 1990*). La proteína que constituye la cápside interna, VP6, es la proteína más abundante en el virus y el blanco de las valoraciones de detección de antígenos más sencillas. De las proteínas no estructurales, NSP4 es un supuesto factor de virulencia, aunque también se incluyen otras proteínas (*Ball et al. 1996*).

1.5 Prevalencia de las cepas de rotavirus

La clasificación de los rotavirus se basa en las diferencias de las proteínas de la cápside de VP7 (G) y VP4 (P). Los serotipos G 1-4 y los genotipos P P[8] y P[4] predominan en todo el mundo (*Gentsch et al. 1996, Gunasena et al. 1993, Mphalele y Steele 1995, Steele et al. 1993, Wu et al. 1994*). Un análisis de los tipos G y P de más de 2700 muestras reveló que el genotipo P[8] casi siempre se asociaba con G1, G3 o G4, y que el P[4] casi siempre se asociaba con G2 (*Gentsch et al. 1996*). En este estudio, 96% de las cepas que podían tipificarse y procedían de muestras fecales con una sola cepa contenían una de estas cuatro combinaciones comunes. Entre ellas, P[8]G1 era predominante y representaba 53% de todas las cepas, e iba seguido de P[8]G3 (14%), P[4]G2 (11%) y P[8]G4 (5%). Se detectaron diversos tipos menos comunes. Aunque individualmente eran poco comunes y cada uno representaba menos de 1% de las cepas, constituyeron 3% en total. Además, dos tipos P poco comunes, P[6] y P[9], que se encontraron con tipos G comunes y una cepa natural reordenada inter especial, P[4]G1, fueron notificados cada uno en seis países, lo cual indica una distribución geográfica amplia. Sin embargo, posteriormente se han notificado serotipos adicionales, incluidos los serotipos G5, G8, G9 y G10. Cada uno se ha notificado en varios países, a menudo contenían una variedad de las proteínas P y a veces como la cepa dominante en un país. Esto indica que estos serotipos poco comunes pueden ser mucho más comunes de lo que se creía anteriormente (*Bon et al. 2000, Cunliffe et al. 1999, Gouvea et al. 1994 y 1999, Griffin et al. 2000, Holmes et al. 1999, Leite et al. 1996, Palombo et al. 2000, Santos et al. 1998, Unicomb et al. 1999*). Han sido especialmente sorprendentes los informes recientes de cepas de serotipo G9 en Bangladesh, el Reino Unido, los EUA y otros países. Estas cepas se han encontrado en altas prevalencias (0,4-13%) desde 1995, están difundidas en cada uno de esos países y existen en por lo menos cinco combinaciones de genotipos. Por consiguiente, es posible que las cepas G9 representen un quinto de los serotipos importantes a nivel mundial que han surgido recientemente o que se subdiagnosticaron en el pasado debido a la vigilancia inadecuada.

En algunos países en desarrollo se observan diferentes características de la distribución de las cepas. En el Brasil, la tercera parte de las infecciones únicas tenía que ver con serotipos que eran poco comunes en otro sitio, por ejemplo P[6]G1, P[6]G3, P[6]G4 y P[3]G1 (*Timenetsky et al. 1994*). Además, la P[8]G5 representó 13% de las infecciones únicas en algunas regiones del Brasil, lo cual la hace la segunda cepa más común detectada. En Bangladesh, 10% de las cepas eran cepas naturales reordenadas inter especiales (P[4]G1 o P[4]G4) o cepas poco comunes (P[6]G1) (*Bern et al. 1992*). En la India, las cepas P[6] con tipos G comunes representaban 43% de las cepas tipificables detectadas en las heces de niños con diarrea, mientras que los cuatro tipos comunes representaban sólo 33% del total (*Ramachandran et al. 1996*); las cepas que se habían reconocido antes principalmente o sólo en recién nacidos asintomáticos (P[6]G9, P[11]G9 y P[11]G10) se aislaron de lactantes con diarrea. Las cepas P[6] se identificaron en 8% de las muestras de niños hospitalizados en Sudáfrica (*Mphalele y Steele 1995*) y en 38% de niños encuestados en Guinea-Bissau (*Fischer et al. 2000*).

Debido a la variabilidad regional de la prevalencia de las cepas y el hecho de que algunos serotipos que se creía que eran poco comunes pueden ser mucho más importantes a nivel mundial de lo que se pensaba, todos los países interesados en llevar a cabo la vigilancia del rotavirus deben incluir un componente de vigilancia de las cepas.

1.6 Vacunas antirrotavíricas

En este momento ninguna vacuna antirrotavírica está incluida en los sistemas de inmunización nacionales. Sin embargo, actualmente se autorizan dos vacunas. En agosto de 1998 se autorizó en los EUA una vacuna mezcla tetravalente humana y de rhesus (RRV-TV) (Rotashield®, Wyeth Laboratories, Inc. EUA) y se recomendó para la vacunación ordinaria de lactantes en los EUA a los 2, 4 y 6 meses de edad (*Centers for Disease Control and Prevention 1999b*). No obstante, en 1999, se observó que la vacuna Rotashield® se asociaba con invaginación intestinal en los vacunados y como resultado de ello se ha retirado del mercado y del calendario de vacunación estadounidenses (*Centers for Disease Control and Prevention 1999a y 1999b*) (véase la sección 1.6.1 más adelante). Antes de la concesión de la licencia, se realizaron siete ensayos amplios de eficacia con la vacuna RRV-TV (*Bernstein et al. 1995, Joensuu et al. 1997, Lanata et al. 1996, Linhares et al. 1996, Perez-Schael et al. 1997, Rennels et al. 1996, Santosham et al. 1997*). Los cálculos resultantes de eficacia fueron de aproximadamente 50-60% contra todos los casos de diarrea por rotavirus y 70-90% contra la infección rotavírica grave, por ejemplo, con diarrea deshidratante y hospitalizaciones. Además, una vacuna de cepa de cordero, LLR, (Lanzhou Institute for Biological Products, China) actualmente está autorizada para uso en China pero no se ha incluido en el sistema ordinario de inmunizaciones infantiles (*Vaccines and Biologicals 2000*).

Otras vacunas antirrotavíricas posibles están en las etapas avanzadas de desarrollo y posiblemente se puedan obtener en el mercado en unos cuantos años. Se está elaborando una vacuna polivalente antirrotavírica redistribuida humana-bovina. En los EUA, una versión anterior tetravalente de esta vacuna confirió aproximadamente 70% de protección contra la gastroenteritis por rotavirus en un ensayo amplio sobre el terreno (*Clark et al. 1995*) y una posible vacuna monovalente de cepa G1 humana viva, 89-12, tuvo una eficacia de 89% contra la gastroenteritis grave por rotavirus en un solo ensayo (*Bernstein et al. 1999*). Se han planificado ensayos sobre el terreno adicionales con ambas vacunas. Se están sometiendo a prueba otras vacunas y estrategias para crear vacunas antirrotavíricas, incluido el uso de otras cepas humanas vivas y cepas neonatales como posibles vacunas, cepas de animales, vacunas parenterales desactivadas y vacunas de subunidades y de otro tipo (*Bresee et al. 1999*).

Todas las principales vacunas posibles constan de virus vivos, se administran por vía oral y se han diseñado para administrarse en un calendario de dosis múltiples en la lactancia temprana junto con otras inmunizaciones que se administran comúnmente. Como la infección rotavírica natural, se espera que las vacunas confieran inmunidad parcial después de una dosis única y mayor protección con dosis posteriores. Dado que se espera que la inmunización contra el rotavirus sea más eficaz contra las enfermedades graves, puede ser aconsejable que la vigilancia se centre en los resultados graves como las hospitalizaciones.

1.6.1 Vacuna RRV-TV e invaginación intestinal

El uso de la formulación autorizada de la vacuna RRV-TV (Rotashield®, Laboratorios Wyeth, EUA) se ha asociado con un mayor riesgo de invaginación intestinal (*Centers for Disease Control and Prevention 1999a, Kramarz et al. 2001, Murphy et al. 2001*). El riesgo parece limitarse a las dos semanas posteriores a las dos primeras dosis de la vacuna y es más alto de tres a siete días

después de la primera dosis (*Kramarz et al. 2001, Murphy et al. 2001*). El riesgo general parece ser pequeño. Los cálculos basados en estudios realizados por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos indican un riesgo atribuible de aproximadamente un caso de cada 4600 a 11 000 vacunados (*Kramarz et al. 2001, Murphy et al. 2001*).

No obstante, estudios ecológicos posteriores produjeron cálculos de riesgo considerablemente menores (un caso de cada 66 000 a 302 000 vacunados) (*Chang et al. 2001, Simonsen et al. 2001*). En un Taller sobre Invaginación Intestinal, Rotavirus y Vacunas Orales celebrado del 5 al 7 de septiembre de 2001 en Arlington, Virginia, EUA, un grupo de expertos en rotavirus llegaron a una cifra de consenso respecto al riesgo atribuible de invaginación intestinal de 1 caso por 10 000 personas que reciben la vacuna antirrotavírica (*G. Peter, comunicación personal, 2002*). El mecanismo biológico de la asociación sigue siendo poco claro. Con todo, estos riesgos condujeron al retiro de la vacuna del calendario de inmunizaciones en los EUA. No se sabe si la invaginación intestinal estaría asociada con otras vacunas antirrotavíricas o con esta vacuna usada en otros entornos, por ejemplo, en países en desarrollo o en recién nacidos. Aunque el riesgo atribuible de invaginación intestinal después de la vacunación sea tan alto en los países en desarrollo como en los EUA, los beneficios de la vacunación contra el rotavirus pueden contrarrestar ampliamente los riesgos. Sin embargo, todos los ensayos de vacunas futuras deben incluir la vigilancia de esta reacción adversa posible, como lo recomienda la OMS (*Vaccines and Biologicals 2000*). Dada la importancia de este resultado, tal vez sea aconsejable que los sistemas de vigilancia de rotavirus diseñados para evaluar las tasas de hospitalización incorporen la vigilancia de la invaginación intestinal. Esto proporcionaría datos básicos sobre las tasas de invaginación intestinal que serían útiles para evaluar la inocuidad de una vacuna después de su introducción.

2. Objetivos

La razón principal del establecimiento de un sistema de vigilancia del rotavirus es recopilar datos que facilitarán y apoyarán la introducción de la vacunación antirrotavírica, una vez que esté disponible una vacuna. Los objetivos generales de la vigilancia descrita en este protocolo genérico son por consiguiente determinar la carga de morbilidad y la epidemiología del rotavirus en un país u otra zona geográfica definida. A largo plazo, después de que las vacunas antirrotavíricas estén disponibles, el sistema de vigilancia puede usarse para vigilar su repercusión.

Los objetivos especiales son los siguientes:

1. Calcular la incidencia de hospitalizaciones asociadas con el rotavirus en una población definida de niños menores de 5 años de edad.
2. Determinar la edad y la distribución estacional de las hospitalizaciones asociadas con el rotavirus en la población de niños menores de 5 años de edad bajo vigilancia.
3. Calcular la proporción de las hospitalizaciones por diarrea en niños menores de 5 años de edad que son atribuibles al rotavirus.
4. Identificar las cepas prevalentes del rotavirus en la población objeto vigilancia.
5. Vigilar las tendencias temporales de la incidencia de la hospitalización, distribución de las edades, carácter estacional y cepas.

3. Selección de la población objeto de vigilancia

3.1 Justificación de centrar la atención en las hospitalizaciones

Este protocolo genérico describe la vigilancia hospitalaria de la gastroenteritis asociada con el rotavirus en niños menores de 5 años de edad. Este tipo de vigilancia requiere una estimación exacta de las características demográficas de la población objeto de vigilancia, la capacidad de llevar a cabo la vigilancia de la gastroenteritis aguda en hospitales que atienden a la población y la capacidad de obtener muestras de heces para confirmar la presencia del rotavirus y documentar de prevalencias de serotipos. La justificación de centrarse en las hospitalizaciones es la siguiente:

- *Las hospitalizaciones permiten la vigilancia de la enfermedad rotavírica grave a la que se dirigirían las actividades de prevención con vacunas.* Por consiguiente, los datos hospitalarios serán importantes al evaluar la necesidad de una vacuna. Una vez que se disponga de una vacuna antirrotavírica, dicha vigilancia permitiría una evaluación fiable y rápida del éxito o fracaso de un programa de vacunación.
- *Las hospitalizaciones son fáciles de detectar.* En los lugares donde la mayoría de los niños con diarrea grave por rotavirus tienen probabilidades de acudir a un hospital para recibir tratamiento, la búsqueda de casos será más fácil que en otros entornos, por ejemplo, en la comunidad, y requiere menos recursos. Para saber dónde reciben atención los niños para la gastroenteritis pediátrica, debe realizarse una encuesta según se describe en la parte II de este documento.
- *Las hospitalizaciones representan un costo significativo en los recursos de salud.* La demostración de la carga de la diarrea por rotavirus en la utilización de recursos de salud puede ser útil al evaluar si la vacuna antirrotavírica debe incluirse en el calendario de vacunación nacional.
- *Es probable que los hospitales tengan servicios de laboratorio,* lo cual hace que sea relativamente fácil tomar las muestras de los niños y someterlas a prueba para determinar la presencia de rotavirus.
- *La incorporación de la vigilancia de la invaginación intestinal es factible en un estudio hospitalario.* Es importante determinar la tasa del punto de comparación de invaginación intestinal en las poblaciones en las que se va a introducir la vacuna antirrotavírica. Un sistema para vigilar las hospitalizaciones atribuibles a la gastroenteritis aguda puede modificarse fácilmente de modo que incluya la invaginación intestinal también, ya que esta enfermedad

ocurre en el mismo grupo de edad y tiene probabilidades de dar lugar a la hospitalización. La OMS está formulando normas para la realización de la vigilancia de la invaginación intestinal.

3.2 Selección de la población objeto de vigilancia y hospitales participantes

Varios factores pueden influir en la selección de una población que va a ser objeto de la vigilancia. Dicha población debe estar bien definida demográfica y geográficamente y debe haber datos relativos a distribución de edades y cifras de nacimientos y defunciones, por ejemplo. Se deben conocer las cifras de niños que pertenecen a grupos de edad particulares (por ejemplo, 0-2, 3-5, 6-8, 9-11, 12-17, 18-23, 24-35, 36-47 y 48-59 meses) para que puedan calcularse las tasas de incidencia específicas de la edad de hospitalización. La vigilancia de las hospitalizaciones atribuibles al rotavirus requiere la inclusión de los niños menores de 5 años, puesto que la carga de morbilidad en los países desarrollados y en los países en desarrollo afecta a este grupo de edad casi exclusivamente.

Lo mejor es iniciar la vigilancia en una población que ha sido estable y que se espera que vaya a ser estable durante el período de vigilancia. Las características de dicha población quizá incluyan pocos cambios previstos del tamaño de población específica de la edad, acceso a la asistencia y tendencias de la inmigración y emigración. Es probable que las poblaciones en las que mueren muchos niños a causa de diarrea antes de acudir al hospital den cálculos subestimados de la morbilidad atribuible a la diarrea por rotavirus y, por consiguiente, no son apropiados para la vigilancia. Los investigadores deben obtener o preparar un mapa de la zona de estudio que muestre los límites geográficos exactos.

Una población que use un solo hospital o un número reducido de hospitales y que tenga buen acceso a estos sería lo ideal. Es más fácil realizar un estudio si un solo hospital grande atiende a la población y si los servicios que presta son gratuitos. Es importante que todos los hospitales públicos y privados que atienden a la población definida se incluyan y estos deben admitir a niños menores de 5 años de edad. Aunque el protocolo no requiere la vigilancia en consultorios de atención ambulatoria o en otros entornos de la atención de salud aparte de los hospitales, es aconsejable conocer las fuentes de atención de salud que existen en la población objeto de vigilancia y los números de pacientes atendidos. Los proveedores de atención a los pacientes ambulatorios pueden incluir servicios públicos, centros de tratamiento de diarrea, médicos privados, farmacéuticos y curanderos. El acceso a un hospital puede determinarse midiendo la distancia entre el hospital y diferentes zonas objeto de vigilancia, teniendo en cuenta todas las zonas que tienen carreteras malas o que no tienen carreteras, la falta de transporte público y barreras naturales como los ríos.

Cada hospital en el que se está realizando la vigilancia de los casos de rotavirus debe tener servicios de laboratorio con capacidad de realizar pruebas de detección del rotavirus mediante métodos de detección rápida de antígenos o un sistema fiable para transportar las muestras a un laboratorio de referencia. Esta capacidad debe incluir recursos necesarios para la toma apropiada y oportuna de muestras de heces, el almacenamiento de las muestras en un refrigerador o congelador hasta que se realice la prueba, personal adiestrado en métodos de pruebas y prácticas de registro adecuadas para permitir la coordinación de los datos clínicos y de laboratorio.

3.3 Tamaño de la población objeto de vigilancia

La población atendida por los hospitales participantes debe ser razonablemente grande para que pueda esperarse un número suficiente de hospitalizaciones asociadas con el rotavirus durante el período de vigilancia. Dado que se espera que la tasa de hospitalización a causa de diarrea por rotavirus de los niños de países en desarrollo sea varias veces superior a la de los niños de países desarrollados, la población necesaria para la observación de un número suficiente de hospitalizaciones asociadas con el rotavirus durante un período de vigilancia de dos años sería mayor en los países desarrollados que en los países en desarrollo.

Cada sitio podría seleccionar los hospitales que se espera que atiendan a por lo menos 250-500 niños con gastroenteritis cada año. Sobre la base de un cálculo moderado de 30% de casos graves de gastroenteritis atribuibles al rotavirus, se deben registrar 75-150 casos de rotavirus anualmente. Suponiendo un cálculo moderado de una incidencia anual de hospitalización asociada con el rotavirus en los países en desarrollo de 12 por 1.000 niños menores de 5 años de edad (sobre la base de la tasa anual venezolana de 30/1000 niños menores de 2 años de edad que se presenta en el cuadro 1 y suponiendo que no ocurre ningún caso adicional en niños de 24-59 meses de edad), una población de 6250 a 12 500 niños menores de 5 años de edad probablemente sería suficiente para hacer cálculos precisos de la carga de la enfermedad. Sin embargo, es difícil determinar el tamaño real de una población objeto de vigilancia que produciría cálculos exactos, dada la escasez de datos sobre las hospitalizaciones en los países en desarrollo y el hecho de que se desconoce la sensibilidad de cada sistema para detectar y someter a prueba los casos de gastroenteritis. Por consiguiente, sería aconsejable que los investigadores realizaran la vigilancia en una población más numerosa para permitir cierto error y cierta variación aleatoria en las tasas previstas de hospitalización atribuible al rotavirus.

3.4 Utilización de servicios de atención de salud

Dado que este protocolo genérico se basa en el monitoreo de los resultados en los hospitales, los miembros de la población deben tener buen acceso a la atención médica dentro del sitio objeto de vigilancia. Además, los residentes de la zona objeto de vigilancia no deben buscar atención en gran medida en hospitales fuera de dicha zona. Se debe procurar incluir todos los hospitales apropiados que están dentro de la zona de vigilancia.

Para cerciorarse de que los hospitales seleccionados para el estudio de vigilancia reciben a suficientes pacientes con diarrea por rotavirus, sería conveniente que los investigadores realizaran un censo de todos los hospitales, consultorios y establecimientos de otro tipo donde los niños con diarrea aguda pueden recibir tratamiento. Se puede trazar un mapa de los sitios de las instituciones y determinar el número de niños menores de 5 años de edad que fueron tratados por diarrea durante el año anterior. Estos datos proporcionarán información preliminar sobre si los hospitales propuestos parecen estar cubriendo a la población. Sin embargo, se necesitará información comunitaria acerca de las tendencias de utilización de la atención de salud de la población propuesta para vigilancia de la gastroenteritis pediátrica.

Cada sitio que desee llevar a cabo la vigilancia del rotavirus en conformidad con los métodos esbozados en este protocolo debe realizar una encuesta de la utilización de servicios de atención de

salud para la gastroenteritis pediátrica al comienzo del estudio. La parte II de este documento proporciona la metodología para efectuar una encuesta de 30 conglomerados que incluye a 600 niños, y esta encuesta proporcionará datos sobre los lugares donde los padres buscan atención cuando sus niños tienen diarrea grave. El conocimiento de los entornos en los que se recibe atención para la gastroenteritis y de las actitudes y prácticas de la población en cuanto a la gastroenteritis y su tratamiento, es vital para diseñar la mejor vigilancia posible a fin de comprender la carga de morbilidad y para comparar los datos entre los estudios realizados en diferentes entornos. En condiciones ideales 100% de pacientes con diarrea grave recibirían atención en un hospital que participa en el estudio. Si una encuesta indica que la cifra está por debajo de 70%, se debe considerar la participación de hospitales adicionales en la zona o el uso de otra población. Si, por el contrario, hay indicios de que el sitio es aceptable para la vigilancia, la encuesta puede proporcionar información que permite a los investigadores ajustar sus datos finales para representar la proporción de niños con gastroenteritis que no tienen probabilidades de hospitalizarse. Los métodos para realizar tal encuesta se explican en la parte II del presente documento.

3.5 Análisis de los datos de estudios anteriores

Varias consideraciones son importantes para determinar los mejores métodos de vigilancia para un país o una región, como los recursos financieros y de personal disponibles, la estructura y los patrones de remisión del sistema de atención de salud local, el interés y los conocimientos científicos locales, la presencia de sistemas de vigilancia para otras enfermedades prevenibles por vacunación y antecedentes de investigaciones epidemiológicas y de laboratorio anteriores sobre el rotavirus. El primer paso razonable consiste en examinar y analizar los datos de rotavirus locales recopilados en estudios anteriores. Se pueden hacer cálculos generales de la carga de la morbilidad rotavírica basándose en datos retrospectivos como encuestas de mortalidad nacionales y registros de laboratorio hospitalarios y locales. Se pueden obtener datos a partir de la bibliografía médica regional, publicaciones de las sociedades médicas locales y boletines informativos hospitalarios, así como de la bibliografía arbitrada. Es posible que alguna información valiosa no se haya publicado, por ejemplo datos sobre la enfermedad diarreica obtenibles de los ministerios de salud u hospitales y resultados de pruebas de rotavirus locales obtenibles de laboratorios hospitalarios locales. El análisis de todas las fuentes disponibles de datos ayuda a definir la epidemiología local del rotavirus, incluida la edad probable en que ocurre la enfermedad y el entorno principal de la carga de morbilidad, por ejemplo, hospitales y consultorios de rehidratación.

Cuando se seleccionan los estudios para su análisis es importante considerar la duración y los métodos de pruebas relativas al rotavirus. Dado que la diarrea por rotavirus es una enfermedad estacional, son aconsejables los estudios que han durado por lo menos un año para que las tasas de detección no resulten influidas por los cambios estacionales de la incidencia. Es posible que haya diferencias anuales de la actividad del rotavirus y pueden evaluarse al examinar las tendencias en los resultados del estudio (por ejemplo, hospitalizaciones) respecto al rotavirus durante varios años.

Se debe crear una lista con información sobre la ubicación y el momento en que se realizaron los estudios, el intervalo de edades y el número de los sujetos estudiados, las pruebas usadas para detectar el rotavirus y el número y el porcentaje de niños positivos frente al rotavirus en cada estudio (véase el anexo 1, donde se dan ejemplos de cuadros para el análisis). Debe proporcionarse

un cálculo resumido de la mediana y el intervalo de la tasa de detección de rotavirus. Se deben analizar las tasas de detección específicas de la edad respecto al rotavirus y la frecuencia acumulativa de resultados asociados con este (por ejemplo, hospitalizaciones) por edad para determinar los grupos de edad de los niños que tienen la mayor carga de morbilidad. El carácter estacional debe evaluarse al examinar las tasas de detección mensual de rotavirus.

4. Vigilancia de las hospitalizaciones asociadas con el rotavirus en niños menores de 5 años de edad

4.1 Panorámica

Este protocolo genérico describe una vigilancia prospectiva de dos años de las hospitalizaciones asociadas con el rotavirus en los niños menores de 5 años de edad. Se examina una muestra de heces de cada niño elegible que tiene gastroenteritis aguda y que ingresa a un hospital participante, para determinar la presencia de rotavirus. Se recopila una serie mínima de datos durante la estadía en el hospital, incluidos los detalles del lugar donde reside el paciente. El estudio se realiza en una población bien definida para permitir el cálculo de la incidencia de la hospitalización, que es la principal medida de carga de morbilidad. Cada sitio debe tener la capacidad de determinar los serotipos presentes en un subconjunto de muestras de heces positivas frente al rotavirus o debe establecer colaboración con un laboratorio de referencia.

4.2 Definiciones de casos

El establecimiento y uso de definiciones uniformes de casos son esenciales para llevar a cabo la vigilancia exacta en entornos múltiples y en el transcurso del tiempo en el mismo entorno.

Para fines de la vigilancia, **caso presunto de diarrea por rotavirus** debe definirse como el caso de un niño menor de 5 años de edad que ingresa para el tratamiento de la diarrea en un hospital que participa en el estudio. Un **caso confirmado de diarrea por rotavirus** debe definirse como un caso presunto en cuyas heces se demuestra la presencia de rotavirus por medio de un inmunoensayo enzimático.

4.3 Sistema de vigilancia

4.3.1 *Libro de registro de hospitalizaciones por diarrea*

El libro de registro de hospitalizaciones por diarrea se usa para hacer un recuento y un seguimiento de todos los niños menores de 5 años de edad que ingresan al hospital debido a la diarrea, es decir, casos presuntos. Cada caso posible en un niño menor de 5 años de edad que ingresa debe anotarse en este libro de registro. La finalización de las entradas en el libro de registros puede requerir encuestas diarias de los pabellones de hospitalización, registros de admisión o métodos de otro tipo según el entorno. La información anotada en el libro de registro debe incluir fecha de ingreso, nombre o número de identificación única del paciente, diagnóstico al ingreso y ubicación del paciente en el hospital. Cada sitio, según sus necesidades particulares, puede anotar información adicional.

4.3.2 Formulario del informe de casos de diarrea por rotavirus

Se debe llenar un formulario del informe de casos que incluya información demográfica, clínica y de laboratorio para cada caso de diarrea por rotavirus detectado (véase el anexo 2, donde se presenta el ejemplo de un formulario del informe de casos). Antes de empezar la vigilancia, el formulario del informe de casos debe someterse a prueba y se debe hacer todo lo posible para que la información se registre de una manera estandarizada. Los datos pueden introducirse en un archivo EpiInfo.QES.

4.4 Procedimientos de laboratorio

4.4.1 Libro de registro de muestras de heces

Cada laboratorio debe mantener un libro de registro de las muestras de heces para anotar la información sobre todos los niños que ingresan a causa de diarrea (véase el 3, donde se presenta el ejemplo de un libro de registro de muestras de heces). A medida que se obtienen datos de laboratorio, por ejemplo, resultados de pruebas relativas al rotavirus, estos deben anotarse en el libro de registro de muestras. La información anotada en dicho libro debe concordar con la información anotada en el libro de registro de hospitalización por diarrea. La comparación frecuente de las entradas en los dos libros ayudará a evitar que se pierdan pacientes de la vigilancia y a procurar que cada paciente se identifique adecuadamente.

4.4.2 Toma y manejo de las muestras

Se debe obtener una cantidad suficiente del grueso de las heces, aproximadamente 5 ml, de cada caso presunto de enfermedad aguda, preferentemente el día de ingreso al hospital. Los hisopos rectales, o los hisopos colocados en medios de cultivo bacteriano, no son óptimos para la detección o caracterización del rotavirus; por lo tanto deben evitarse. Se debe tratar de obtener una muestra de heces de todos los casos posibles en las 48 horas que siguen al ingreso hospitalario para evitar la detección de infección nosocomial. La muestra de heces debe colocarse en un envase estéril con tapa de rosca, por ejemplo, un envase para muestras de orina, y adecuadamente rotulado con información que incluya un número de identificación única y la fecha de la toma. Es necesario verificar que la información que aparece en la etiqueta de la muestra coincide con la del libro de registro de muestras de heces. Toda muestra de heces debe almacenarse en un congelador a -20°C hasta que se realice la prueba y se debe prestar atención para evitar ciclos de congelación y descongelación cuando sea posible. En casos de almacenamiento prolongado, se prefiere una temperatura de -70°C porque hay datos que indican que la capacidad de caracterizar el rotavirus disminuye cuando el almacenamiento a -20°C dura varios años (*O’Ryan et al. 1990, Unicomb et al. 1989*).

Se deben considerar en especial las condiciones de almacenamiento a largo plazo de las muestras de heces recogidas de los países endémicos respecto a la poliomielitis. Las muestras de heces tomadas para el estudio de rotavirus también pueden contener inadvertidamente poliovirus salvaje si se toman en los países endémicos. Tales muestras pueden representar la única fuente restante de poliovirus salvaje una vez que se ha alcanzado la meta de la Iniciativa de Erradicación de la

Poliomielitis. Para prevenir la reintroducción de poliovirus salvaje, dicha Iniciativa ha elaborado un Plan de Acción Mundial para la Contención de Laboratorio de Poliovirus Salvajes. El Plan de Acción describe las consideraciones de seguridad que los laboratorios deben tener en cuenta cuando almacenen muestras que se sabe que contienen o que podrían contener poliovirus salvaje (*WHO Department of Vaccines and Biologicals, 1999*). Se solicita a todos los laboratorios que tengan tales muestras que se registren en el Inventario Nacional de Laboratorios con Materiales de Poliovirus Salvajes de su país y que almacenen estos materiales en las condiciones descritas en el documento. Para mayor información, sírvase consultar el documento citado o contactar la Iniciativa de Erradicación de Poliomiélitis, Departamento de Vacunas y Productos Biológicos de la OMS, CH 1211 Ginebra 27, Suiza (+41 22 791 4524/ 4372; labnet@who.int).

Si es necesario almacenar las muestras temporalmente antes de colocarse en un congelador, estas deben refrigerarse a una temperatura de 4 a 8°C. La infectividad del rotavirus en heces y medio de cultivo es relativamente estable a estas temperaturas (*Meng et al. 1987, Ramos et al. 2000*). Si es necesario transportar las muestras antes de congelarse, se deben usar bolsas de hielo para mantenerlos a una temperatura de 4 a 8°C. No obstante, los rotavirus son relativamente estables en diversas condiciones; esto se aplica a algunas cepas almacenadas a temperatura ambiente en medio de cultivo (*Meng et al. 1987*). En consecuencia, aunque ocurra un contratiempo en el manejo, por ejemplo, en caso de que el almacenamiento de las muestras a temperatura ambiente dure más de cuatro horas, estas todavía pueden analizarse, aunque debe tenerse en cuenta la pérdida potencial de sensibilidad en los análisis posteriores.

Si las muestras de heces también se analizan para determinar la presencia de agentes patógenos bacterianos o parasitarios, las muestras deben llevarse al laboratorio antes de que transcurran dos horas desde el momento de la toma y deben colocarse en los medios apropiados. Las normas especiales de toma, manejo y análisis de las muestras respecto a otros enteropatógenos deben obtenerse de otras fuentes.

4.4.3 Métodos para la detección del rotavirus

Todas las heces recogidas deben analizarse para determinar la presencia de antígeno rotavírico mediante un estuche para inmunoensayo enzimático comercial. Otros métodos de detección—microscopía electrónica, electroforesis de ARN y el uso de la reacción en cadena de la polimerasa—en general son más laboriosos, requieren un uso intensivo de recursos y exigen más adiestramiento. Por lo tanto, no se recomiendan para uso corriente en la vigilancia. Existen varios estuches de inmunoensayo enzimático para la detección rápida del rotavirus. Salvo la prueba de ID EIA, los estuches presentados en el cuadro 3 se han usado y evaluado ampliamente (*Dennehy et al. 1990 y 1999, Lipson et al. 2001, Lipson y Zelinsky-Papez 1989, Sanchez et al. 1993*). Se ha incluido la prueba de ID EIA porque tiene un formato conveniente y se utilizó en un estudio anterior (*Wilhelmi et al. 1999*).

Cuadro 3. Estuches para inmunoensayo enzimático de rotavirus* para uso en estudios de vigilancia

Producto	Fabricante	Formato	Número de pruebas en cada estuche
Inmunoensayo enzimático cualitativo o cuantitativo de antígenos Premier Rotaclone®	Meridian Diagnostics, Inc., EUA	12 tiras de pocillo	48
Inmunoensayo enzimático cualitativo de antígenos cualitativos Abbott Testpack®	Abbott Laboratories, EUA	Discos de reacción individual	20
Inmunoensayo enzimático cualitativo de antígenos de rotavirus Pathfinder®	Sanofi Diagnostics Pasteur, Francia	Tubos individuales	50
Prueba de Rotavirus de ID EIA	DAKO Diagnostics Ltd, Reino Unido	12 tiras de pocillo	96

* Nota: La lista anterior de productos y fabricantes de estuches para inmunoensayo enzimático de rotavirus no indica el aval especial de estos productos y/o fabricantes. Sírvase seguir cuidadosamente las instrucciones del fabricante cuando use estos productos.

El cuadro 3 no es una lista completa de las pruebas disponibles pero, en general, presenta los estuches que tienen sensibilidad y especificidad comparables y están disponibles ampliamente. Cada sitio debe consultar con el laboratorio más cercano para obtener más información acerca de los estuches y su disponibilidad local. Lo mejor es usar el estuche de un solo fabricante durante todo el estudio para que los datos sean comparables y uniformes. Una vez que se ha terminado la detección de antígenos, las heces y la suspensión de heces restantes deben almacenarse a aproximadamente -20°C, a menos que haya que estudiar extractos de inmediato con análisis de serotipos. En este caso, las suspensiones pueden mantenerse a una temperatura de 4 a 8°C durante unos cuantos días.

4.5 Análisis de datos

El primer paso en el análisis de datos debe ser caracterizar los casos notificados de diarrea por rotavirus por persona, lugar o fecha respecto a los niños que pertenecen a la población de referencia definida al comienzo de la vigilancia. El análisis especial debe cubrir los siguientes puntos.

1. El número de hospitalizaciones por diarrea en niños menores de 5 años de edad.
2. El porcentaje de hospitalizaciones por diarrea en niños menores de 5 años de edad.
3. La distribución de las hospitalizaciones a causa de diarrea por etiología, incluida la diarrea por rotavirus.
4. El porcentaje de hospitalizaciones asociadas con la diarrea causada por rotavirus.
5. Las tasas de hospitalizaciones asociadas con diarrea y rotavirus por 1.000 niños por año en la población objeto de vigilancia en total y por grupos de edad de 0-2, 3-5, 6-8, 9-11, 12-17, 18-23 y 24-59 meses.
6. Los porcentajes de hospitalizaciones por diarrea asociada con rotavirus por grupos de edad de 0-2, 3-5, 6-8, 9-11, 12-17, 18-23 y 24-59 meses.
7. Los números y los porcentajes de hospitalizaciones por diarrea y por diarrea por rotavirus por mes del año.

8. La mediana y el intervalo de duración de la estadía en el hospital respecto a todas las hospitalizaciones por diarrea y por diarrea por rotavirus.
9. El número y la tasa de defunciones asociados con diarrea por rotavirus.
10. El cálculo de los datos anteriores por año de vigilancia.

4.6 Monitoreo de la calidad de los datos

El examen periódico de los datos recopilados puede ayudar a detectar los problemas relativos a la recopilación de datos, la inscripción de pacientes o la toma o el manejo de muestras. Algunos signos de que tal vez existan problemas en los procedimientos de estudio se indican a continuación.

Número inferior al previsto de sujetos estudiados para determinar la presencia de rotavirus

Los datos recopilados antes del estudio relativos al número de hospitalizaciones por gastroenteritis aguda en niños menores de 5 años de edad por mes deben indicar, respecto a cada sitio, cuántos niños aproximadamente puede esperarse que se hospitalicen durante el período de estudio. Si el número de niños inscritos en el estudio, es decir, los niños con diarrea aguda (casos presuntos) está por debajo de 75% del número previsto esperado en dos meses consecutivos, esto puede indicar que los procedimientos para la búsqueda de casos son inadecuados. El número previsto puede calcularse como el número promedio de ingresos por gastroenteritis por mes durante los tres años anteriores, en el supuesto de que no hay ningún cambio importante de las tendencias de remisión o del tamaño de la población. Si, sin embargo, se producen tales cambios, deben verificarse los métodos para detectar nuevos ingresos.

Menos del 15% de los niños son positivos frente al rotavirus.

Dado que la mayoría de los estudios hospitalarios han detectado infección rotavírica en 20-50% de los niños ingresados por diarrea aguda, una tasa de detección inferior al 15% puede indicar la presencia de un problema. Una tasa de detección inferior al 15% debe hacer que los investigadores se planteen las siguientes preguntas:

1. ¿Está el sistema de vigilancia pasando por alto los grupos de edad más temprana?
2. ¿Es suficiente la cantidad de heces recogida?
3. ¿No son óptimos los procedimientos de manejo de muestras de heces?
4. ¿Hay problemas con el uso de estuches para la prueba de inmunoensayo enzimático?
5. ¿Han caducado los reactivos de los estuches para la prueba de inmunoensayo enzimático?
6. ¿Se están sometiendo a prueba las heces en el momento oportuno?
7. ¿Es adecuado el almacenamiento de las muestras?
8. ¿Se ha adiestrado adecuadamente al personal?

Dado que puede esperarse que muchos entornos tengan puntos máximos y mínimos estacionales en la circulación del rotavirus, la tasa de detección en la que se deben investigar problemas puede reducirse en algunos meses. Los brotes de otros agentes entéricos en una zona objeto de vigilancia pueden producir una disminución de la proporción de muestras positivas frente al rotavirus, pero el número absoluto de resultados positivos no debe cambiar notablemente.

4.7 Duración de la vigilancia

En condiciones ideales, la vigilancia debe realizarse por lo menos durante dos años completos para evaluar las variaciones anuales y estacionales de la carga de morbilidad. Una vez que la vacuna antirrotavírica esté disponible, tal sistema debe introducirse por lo menos durante un año completo antes de la introducción de la vacuna, a fin de proporcionar un cálculo fiable del punto de comparación en el que se va a basar el cálculo de la eficacia de la inmunización contra el rotavirus.

5. Vigilancia y caracterización de cepas

La información sobre la prevalencia de cepas de rotavirus circulantes es importante para evaluar la repercusión probable de la vacuna y para comprender las razones de cualquier fracaso que pueda tener el programa. En cada entorno donde se realiza la vigilancia de rotavirus, se debe obtener información acerca de las cepas de rotavirus locales. En un sitio dado sería aconsejable efectuar la serotipificación de las cepas con la ayuda de expertos y laboratorios locales, participar en una red de vigilancia de cepas regional (véase el anexo 4) y/o colaborar con un laboratorio de referencia internacional.

5.1 Antecedentes de los métodos de caracterización de cepas

Los estudios clínicos y epidemiológicos del rotavirus han dependido de la disponibilidad de métodos sensibles para detectar rotavirus en las muestras fecales obtenidas de niños infectados. La labor inicial se realizó mediante microscopía electrónica. Sin embargo, la elaboración de inmunoensayos, pruebas de látex y la electroforesis han hecho que el diagnóstico sea factible en todo el mundo. Estas valoraciones son rápidas, sensibles, específicas, de bajo costo y fáciles de realizar, y pueden usarse en entornos más sencillos de laboratorio. La sensibilidad de los medios de diagnóstico corrientes es alta dado que el número de virus excretado por un niño con diarrea por rotavirus (aproximadamente 10^{10} - 10^{12} virus por gramo de heces) es mucho mayor que el límite de detección de aproximadamente 10^7 virus por gramo de heces establecido para el inmunoensayo enzimático. El virus puede cultivarse a partir de las muestras de heces, y se dispone de métodos de detección molecular, por ejemplo, la hibridación de mancha y la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa (RT-RCP), para estudios especiales pero no se necesitan para el diagnóstico corriente.

Dado que los genes que codifican las dos proteínas asociadas con la neutralización se segregan independientemente, se ha adoptado un sistema de serotipificación dual para representar las especificidades de serotipo de VP7 (G) y VP4 (P) (*Gentsch et al. 1996*). Los serotipos G se determinan empleando un inmunoensayo enzimático con cuatro anticuerpos monoclonales dirigidos a epítomos específicos de serotipos en la proteína VP7 de los cuatro tipos G comunes. Los serotipos G pueden predecirse con métodos moleculares, como RT-RCP, hibridación con sondas de oligonucleótidos y secuenciación de nucleótidos. Los serotipos P son difíciles de determinar con métodos tradicionales de neutralización vírica y, aunque se han descrito inmunoensayos que incorporan anticuerpos monoclonales (*Coulson 1993, Masendycz et al. 1997, Padilla-Noriega et al. 1993 y 1998*), no se han aplicado ampliamente a la serotipificación de P. En consecuencia, los genotipos P se definen sobre la base de las diferencias predichas de aminoácidos y se comparan con cepas de serotipo P conocido. Este método se correlaciona con la neutralización vírica, y los virus que tienen una semejanza de más de 89% de la secuencia de aminoácidos de VP4 generalmente son indistinguibles desde el punto de vista serológico (*Gorziglia et al. 1990*). Se han observado

excepciones a estas correlaciones (*Hoshino et al. 1998, Li et al. 1996*). Sobre la base de la correlación entre el serotipo y la secuencia de aminoácidos, se han elaborado sondas e iniciadores específicos de genotipos para determinar los genotipos P mediante RT-RCP y métodos de hibridación (*Gentsch et al. 1992*).

5.2 Selección de muestras para caracterización adicional

Se debe escoger una submuestra de heces positivas frente al rotavirus, obtenidas en la vigilancia ordinaria, para caracterización adicional. El tipo y el tamaño de la muestra dependen del número de pruebas positivas, de los recursos de la institución en cuestión, del número y la heterogeneidad de los hospitales participantes, de la variabilidad de las cepas en estudios anteriores y de factores de otra índole. Todos los hospitales que forman parte del sistema de vigilancia deben contribuir con muestras de heces positivas frente al rotavirus para caracterización adicional a fin de mejorar la representatividad del sistema. Se deben tomar muestras para el examen a lo largo del año. Solo se deben elegir muestras que tengan un volumen adecuado para realizar varias pruebas (más de 3 ml) y evitar que se acabe el material antes de terminar las pruebas. Por último, la selección debe ser lo más aleatoria y estandarizada posible para reducir al mínimo el sesgo de selección. La decisión en cuanto a cuáles muestras se van a estudiar podría tomarse a fines de cada año de vigilancia basándose en la distribución mensual y específica de la edad de las cepas y las consideraciones anteriores.

5.3 Métodos de caracterización de cepas

Con mayor frecuencia, los rotavirus se caracterizan respecto a sus proteínas VP7 (G) y VP4 (P). Estos son los antígenos víricos a los que se dirigen anticuerpos neutralizantes y son la base de la nomenclatura de rotavirus. Las vacunas antirrotavíricas que se están elaborando se han diseñado para inducir protección contra los virus con tipos G y P comunes, por lo cual el conocimiento de los tipos prevalentes puede resultar importante para las decisiones sobre el uso de vacunas. Se han utilizado ampliamente dos métodos principales para la tipificación: serotipificación con anticuerpos monoclonales para determinar la proteína G y RT-RCP para identificar los tipos G y P.

En una de las estrategias de tipificación, las cepas primero se serotipan respecto a G mediante el inmunoensayo enzimático con anticuerpos monoclonales específicos de tipos frente a los serotipos predominantes (generalmente G1-G4), y posiblemente frente a otras cepas, según datos locales anteriores. Por ejemplo, se ha observado que los virus G5, G8, G9 y G10 son muy comunes en algunos países y los G6 y G12 también se han detectado en diversos sitios. Se han producido anticuerpos monoclonales frente a los tipos comunes y los tipos infrecuentes G5, G6, G8 y G10, junto con métodos para su uso (*Coulson et al. 1987, Taniguchi et al. 1987*). Los investigadores pueden esperar tipificar respecto a G el 50-80% de las cepas con anticuerpos monoclonales solos. Las muestras almacenadas durante el período mínimo de tiempo antes del análisis han producido el porcentaje más alto de cepas tipificables, probablemente porque la cápside exterior se degrada lentamente durante el almacenamiento y con el tiempo los anticuerpos monoclonales específicos de serotipos ya no pueden formar enlaces (*Matson et al. 1990*). La congelación y descongelación de las heces también pueden reducir la capacidad de serotipificar los rotavirus con anticuerpos monoclonales. Las cepas que no son tipificables mediante anticuerpos monoclonales deben genotipificarse con RT-RCP y técnicas de hibridación (*Das et al. 1994, Gentsch et al. 1992*,

Gouvea et al. 1990, Gunasena et al. 1993). El análisis de cepas no tipificables con estos métodos ha sido importante para identificar cepas infrecuentes que podrían desempeñar una función en las estrategias de vacunación (*Griffin et al. 2000, Unicomb et al. 1999*).

La segunda estrategia, que es la que recomendamos, es tipificar las muestras exclusivamente mediante RT-RCP. En la primera estrategia, es decir, la serotipificación con anticuerpos monoclonales, el 20-50% de las muestras analizadas siguen siendo no tipificables y posteriormente tienen que volverse a analizar con métodos de genotipificación, independientemente del cuidado con que se han tomado y almacenado las muestras. Por consiguiente, es probable que sea más fácil que la mayoría de los laboratorios establezcan un solo método de tipificación, es decir, la RT-RCP. Además, la genotipificación con RT-RCP ha resultado sumamente eficaz en algunos entornos, y permite la tipificación del 90-95% de las cepas (*Bon et al. 2000, Griffin et al. 2000, Iturriza-Gomara et al. 1999, Ramachandran et al. 1998*), y este enfoque se requiere para la genotipificación que recomendamos respecto a P de un subconjunto representativo de cepas. En cuanto al subconjunto de cepas genotipificadas respecto a P, también deben estar representados los serotipos G infrecuentes. Las cepas que tienen tipos G y/o P infrecuentes pueden analizarse adicionalmente con electroforesis de geles de poliacrilamida, que ayuda a comprender el grado de diversidad entre las cepas mediante la determinación de las características de migración del ARN (larga frente a corta). Una serie completa de protocolos de caracterización de cepas con detalles de las fuentes de reactivos, incluidos algunos reactivos limitados como los iniciadores de RT-RCP, puede obtenerse dirigiéndose al Dr. Jon Gentsch, Centro Colaborador de la OMS para Rotavirus y Agentes de la Gastroenteritis Vírica, Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, 1600 Clifton Road, N.E., MailstopG-04, Atlanta, GA 30333, EUA (correo electrónico: jrg4@cdc.gov; Fax: + 1 404 639 3645).

6. Otros temas

6.1 Función del coordinador de la vigilancia

En cada estudio se debe asignar un coordinador que se encargue de la ejecución y el monitoreo del sistema y de la redacción de informes. En los sitios que llevan a cabo la vigilancia (por ejemplo, laboratorio, hospital, ministerio de salud) el coordinador debe designar a personas para que se encarguen de recopilar los datos. El coordinador debe contactar periódicamente los sitios, por ejemplo a intervalos semanales, para cerciorarse de que se está llevando a cabo la recopilación fidedigna de datos, y debe visitar los sitios, por ejemplo a intervalos mensuales, para determinar si se están manteniendo registros completos. También debe cerciorarse de que se obtiene la información que falta y de que se corrige la información y, si fuera posible, debe supervisar la entrada de datos en una base de datos computadorizada para facilitar el análisis.

6.2 Vigilancia de otros resultados

La vigilancia hospitalaria de la gastroenteritis por rotavirus probablemente sea el tipo más práctico de vigilancia en muchos entornos. Sin embargo, en algunas situaciones la vigilancia de otros resultados o el uso de otros métodos puede ser aconsejable. Por ejemplo, la vigilancia domiciliaria o la vigilancia de casos de gastroenteritis pediátrica que se presentan en los consultorios de la comunidad puede considerarse en algunos entornos. El uso cada vez mayor de servicios prolongadas en los departamentos de rehidratación hospitalarios, en vez de ingresar a los niños con gastroenteritis, puede requerir la inclusión de estos consultorios en la vigilancia de la enfermedad grave. Se ha descrito el uso de bases de datos codificadas por la CIE para calcular las hospitalizaciones y la mortalidad asociadas con el rotavirus, y esto es apropiado para entornos donde esos datos están disponibles (*Parashar et al. 1998 y 1999*). Cuando los recursos son insuficientes para llevar a cabo la vigilancia hospitalaria según se describe en este protocolo, sería apropiado participar en una red de vigilancia de cepas de rotavirus regional (véase el anexo 4). Dado que el resultado más apropiado que va a considerarse puede variar de un sitio a otro, se deben examinar las tendencias de tratamiento locales en cada sitio antes de empezar la vigilancia.

El cálculo de la mortalidad asociada con el rotavirus puede ser particularmente importante para establecer prioridades de salud pública. Esta puede calcularse en entornos donde se dispone de información sobre datos de mortalidad mensual específicos de la edad junto con algunos datos específicos de síndromes (obtenidos, por ejemplo, mediante autopsias verbales) combinados con datos de vigilancia hospitalaria de la fracción de rotavirus. Recientemente se ha notificado el uso de este método en Guinea-Bissau (*Molbak et al. 2001*).

6.3 Inclusión de datos sobre costos y uso de recursos

Considerando que una meta implícita de la vigilancia es dirigir la política pública y los recursos de salud apropiadamente, sería aconsejable que un sistema de vigilancia recopilara datos sobre los costos relacionados con el rotavirus, ya sea en recursos o en dinero invertido en el tratamiento y la atención de los niños enfermos. Esto es particularmente útil en los países donde la mortalidad por rotavirus es baja pero las tasas de hospitalización son altas. Los costos que se van a estudiar dependen del entorno de la vigilancia, los intereses del organismo que recopila o vigila los datos y el lugar donde se recopilan los datos. Por ejemplo, si un ministerio de salud está a cargo de financiar los hospitales que atienden a los niños que padecen enfermedad rotavírica, puede ser útil recopilar los datos relacionados con los costos monetarios asociados con la dotación de personal y los materiales para la atención de estos niños en los hospitales. La información sobre los costos asociados con el rotavirus puede usarse para tomar decisiones acerca del costo-beneficio de la introducción de vacunas. Se están elaborando normas para estudios de costos de la gastroenteritis por rotavirus.

6.4 Oportunidad para colaboración y redes regionales

Una vez que se establece un estudio de vigilancia hospitalaria, sería conveniente que varios países coordinaran las actividades y formaran un grupo regional de vigilancia (véase el anexo 4). Las ventajas de tal colaboración incluyen la posibilidad de compartir recursos (por ejemplo, al organizar un laboratorio regional de vigilancia de cepas), aprender más acerca de la epidemiología de la enfermedad rotavírica y comparar datos con miras a determinar las mejores estrategias preventivas posibles. Además, pueden surgir oportunidades de investigación. Por último, organismos como la OMS y los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos podrían colaborar o proporcionar servicios de consulta técnica para algunas actividades, como pruebas de laboratorio y diseño y ejecución de la vigilancia (véanse las direcciones de contacto en el recuadro a continuación).

Direcciones

Dr. Duncan Steele
Departamento de Vacunas y Productos Biológicos
Organización Mundial de la Salud
Ginebra 27
CH-1211 Suiza
Correo electrónico: steeled@who.int - Fax: 41 22 791-4860

Dr. Joseph Bresee
Centro Colaborador de la OMS para Rotavirus y los Agentes de la Gastroenteritis Vírica
Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades
1600 Clifton Road, N.E., MS G-04
Atlanta, GA 30333, USA
Correo electrónico: jbresee@cdc.gov - Fax: +1 404 639-3645

Referencias

Abiodun P, Ihongbe J, Ogbimi A (1985): Asymptomatic rotavirus infection in Nigerian day-care centres. *Annals of Tropical Paediatrics* 5:163-165.

Araya M, Figueroa G, Espinoza J, Zarur X, Brunser O (1986): Acute diarrhoea and asymptomatic infection in Chilean preschoolers of low and high socio-economic strata. *Acta Paediatrica Scandinavica* 75:645-651.

Ball JM, Tian P, Zeng CQ-Y, Morris AP, Estes MK (1996): Age-dependent diarrhea induced by a rotaviral nonstructural glycoprotein. *Science* 272:101-104.

Bass DM, Greenberg HB (1995): Group A rotaviruses. En: Blaser MJ, Smith PD, Ravdin JI, Greenberg HB, Guerrant RL (eds). *Infections of the gastrointestinal tract*. Nueva York: Raven Press; 967-981.

Bern C, Unicomb L, Gentsch JR, Banul N, Yunus M, Sack RB, Glass RI (1992): Rotavirus diarrhea in Bangladeshi children: correlation of disease severity with serotypes. *Journal of Clinical Microbiology* 30:3234-3238.

Bernstein DI, Glass RI, Rodgers G, Davidson BL, Sack DA (1995): Evaluation of rhesus rotavirus monovalent and tetravalent reassortant vaccines in US children. *Journal of the American Medical Association* 273:1191-1196.

Bernstein DI, Sack DA, Rothstein E, Reisinger K, Smith VE, O'Sullivan D, Spriggs DR, Ward RL (1999): Efficacy of live, attenuated, human rotavirus vaccine 89-12 in infants: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 354:287-290.

Bhan MK, Raj P, Bhandari N, Svensson L, Stintzing G, Prasad AK, Jayashree S, Srivatsava R (1988): Role of enteric adenoviruses and rotaviruses in mild and severe acute enteritis. *Pediatric Infectious Disease Journal* 7:320-323.

Black RE, Brown KH, Becker S, Alim AR, Huq I (1982a): Longitudinal studies of infectious disease and physical growth of children in rural Bangladesh 2. Incidence of diarrhea and association with known pathogens. *American Journal of Epidemiology* 115:315-324.

Black RE, Greenberg HB, Kapikian AZ, Brown KH, Becker S (1982b): Acquisition of serum antibody to Norwalk virus and rotavirus and relation to diarrhea in a longitudinal study of young children in rural Bangladesh. *Journal of Infectious Diseases* 145:483-489.

Black RE, Lopez de Romana G, Brown KH, Bravo N, Grados Bazalar O, Kanashiro HC (1989): Incidence and etiology of infantile diarrhea and major routes of transmission in Huascar, Peru. *American Journal of Epidemiology* 129:785-799.

Bon F, Fromantin C, Aho S, Pothier P, Kohli E (2000): G and P genotyping of rotavirus strains circulating in France over a three year period: detection of G9 and P[6] strains at low frequencies. *Journal of Clinical Microbiology* 38:1681-1683.

Brandt CD, Kim HW, Rodriguez JO, Arrobbio WJ, Jeffries BC, Stallings EP, Lewis C, Miles AJ, Chanock RM, Kapikian AZ, Parrott RH (1983): Pediatric viral gastroenteritis during eight years of study. *Journal of Clinical Microbiology* 18:71-78.

Bresee J, Glass RI, Ivanoff B, Gentsch JR (1999): Current status and future priorities for rotavirus vaccine development, evaluation and implementation in developing countries. *Vaccine* 17:2207-2222.

Carlin JB, Chondros P, Masendycz P, Bugg H, Bishop RF, Barnes GL (1998): Rotavirus infection and rates of hospitalisation for acute gastroenteritis in young children in Australia, 1993-1996. *Medical Journal of Australia* 169:252-256.

Centers for Disease Control and Prevention (1999a): Rotavirus vaccine for the prevention of rotavirus gastroenteritis among children: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *Morbidity and Mortality Weekly Report* 48 (No. RR-2):1-23.

Centers for Disease Control and Prevention (1999b): Intussusception among recipients of rotavirus vaccine, United States, 1998-1999. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 48:577-581.

Champsaur H, Questiaux E, Prevot J, Henry-Amar M, Goldszmidt D, Bourjouane M, Bach C (1984): Rotavirus carriage, asymptomatic infection, and disease in the first two years of life. I. Virus shedding. *Journal of Infectious Diseases* 149:667-674.

Chang H-G, Smith PF, Ackelsberg J, Morse DL, Glass RI (2001): Intussusception, rotavirus diarrhea, and rotavirus vaccine use among children in New York State. *Pediatrics* 108:54-60.

Cicirello HG, Das BK, Gupta A, Bhan MK, Gentsch JR, Kumar R, Glass RI (1994): High prevalence of rotavirus infection among neonates born at hospitals in Delhi, India: predisposition of newborns for infection with unusual rotavirus. *Pediatric Infectious Disease Journal* 13:720-724.

Clark HF, White CJ, Offit PA et al. (1995): Preliminary evaluation of safety and efficacy of quadrivalent human-bovine rotavirus vaccine. *Pediatric Research* 37:172A.

Cook SM, Glass RI, LeBaron CW, Ho M-S (1990): Global seasonality of rotavirus infections. *Bulletin of the World Health Organization* 68:171-177.

Coulson BS (1993): Typing of human rotavirus VP4 by an enzyme immunoassay using monoclonal antibodies. *Journal of Clinical Microbiology* 31:1-8.

Coulson B, Unicomb LE, Pitson GA, Bishop RF (1987): Simple and specific enzyme immunoassay using monoclonal antibodies for serotyping human rotaviruses. *Journal of Clinical Microbiology* 25:509-515.

Cravioto A, Reyes RE, Trujillo F, Uribe F, Navarro A, De La Roca JM, Hernandez JM, Perez G, Vazquez V (1990): Risk of diarrhea during the first year of life associated with initial and subsequent colonization by specific enteropathogens. *American Journal of Epidemiology* 131:886-904.

Cunliffe NA, Kilgore PE, Bresee JS, Steele AD, Luo N, Hart CA, Glass RI (1998): Epidemiology of rotavirus diarrhoea in Africa: a review to assess the need for rotavirus immunization. *Bulletin of the World Health Organization* 76:525-537.

Cunliffe NA, Gondwe JS, Broadhead RL, Molyneux ME, Woods PA, Bresee JS, Glass RI, Gentsch JR, Hart CA (1999): Rotavirus G and P types in children with acute diarrhea in Blantyre, Malawi, from 1997 to 1998: predominance of novel P[6]G8 strains. *Journal of Medical Virology* 57:308-312.

Cunliffe NA, Gondwe JS, Kirkwood CD, Graham SM, Nhlane NM, Thindwa BDM, Dove W, Broadhead RL, Molyneux ME, Hart CA (2001): Effect of concomitant HIV infection on presentation and outcome of rotavirus gastroenteritis in Malawian children. *Lancet* 358:550-555.

Das BK, Gentsch JR, Cicirello HG, Woods PA, Gupta A, Ramachandran M, Kumar R, Bhan MK, Glass RI (1994): Characterization of rotavirus strains from newborns in New Delhi, India. *Journal of Clinical Microbiology* 32:1820-1822.

Dennehy PH, Gauntlett DR, Spangenberg SE (1990): Choice of reference assay for the detection of rotavirus in fecal specimens: electron microscopy versus enzyme immunoassay. *Journal of Clinical Microbiology* 28:1280-1283.

Dennehy PH, Hartin M, Nelson SM, Reising SF (1999): Evaluation of the ImmunoCardSTAT: rotavirus assay for detection of group A rotavirus in fecal specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 37(6):1977-1979.

De Wit MAS, Koopmans MPG, Van der Blig JF, van Duynhoven YTHP (2000): Hospital admissions for rotavirus infection in the Netherlands. *Clinical Infectious Diseases* 31:698-704.

De Zoysa I, Feachem RG (1985): Interventions for the control of diarrhoeal disease among young children: rotavirus and cholera immunization. *Bulletin of the World Health Organization* 63:569-583.

Eiden J, Lososnyk GA, Johnson J, Yolken RH (1985): Rotavirus RNA variation during chronic infection of immunocompromised children. *Pediatric Infectious Disease Journal* 4:632-637.

Ferson MJ (1996): Hospitalizations for rotavirus gastroenteritis among children under five years of age in New South Wales. *Medical Journal of Australia* 164:273-276.

Fischer TK, Steinsland H, Molbak K, Ca R, Gentsch JR, Valentiner-Branth P, Aaby P, Sommerfelt H (2000): Genotype profiles of rotavirus strains from children in a suburban community in Guinea-Bissau, Western Africa. *Journal of Clinical Microbiology* 38:264-267.

Gentsch JR, Glass RI, Woods P, Gouvea V, Gorziglia M, Flores J, Das BK, Bhan MK (1992): Identification of group A rotavirus gene 4 types by polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology* 30:1365-1373.

Gentsch JR, Woods PA, Ramachandran M, Das BK, Leite JP, Alfieri A, Kumar R, Bhan MK, Glass RI (1996): Review of G and P typing results from a global collection of strains: implications for vaccine development. *Journal of Infectious Diseases* 174(Suppl 1):S30-S36.

Georges-Courbot MC, Monges J, Beraud-Cassel AM, Gouandjika I, Georges AJ (1988): Prospective longitudinal study of rotavirus infections in children from birth to two years of age in Central Africa. *Annals de l'Institut Pasteur Virology* 139:421-428.

Gomez JA, Nates S, De Castagnaro NR, Espul C, Borsa A, Glass RI (1998): Anticipating rotavirus vaccines: review of epidemiologic studies of rotavirus diarrhea in Argentina. *Pan American Journal of Public Health* 3:69-78.

Gorziglia M, Larralde G, Kapikian AZ, Chanock RM (1990): Antigenic relationships among human rotaviruses as determined by outer capsid protein VP4. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87:7155-7159.

Gouvea V, Glass RI, Woods P, Taniguichi K, Clark HF, Forrester B, Fang ZY (1990): Polymerase chain reaction amplification and typing of rotavirus nucleic acid from stool specimens. *Journal of Clinical Microbiology* 28:276-282.

Gouvea V, De Castro L, Do Carmo Timenetsky M, Greenberg H, Santos N (1994): Rotavirus serotype G5 associated with diarrhea in Brazilian children. *Journal of Clinical Microbiology* 32:1408-1409.

Gouvea V, Santos (1999): Detection and characterization of novel rotavirus strains in the United States. *Journal of Clinical Microbiology* 37:2385-2386.

Griffin DD, Kirkwood CD, Parashar UD, Woods PA, Bresee JS, Glass RI, Gentsch JR (2000): Surveillance of rotavirus strains in the United States: identification of unusual strains. *Journal of Clinical Microbiology* 38:2784-2787.

Grinstein S, Gomez JA, Bercovich JA, Biscotti EL (1989): Epidemiology of rotavirus infection and gastroenteritis in prospectively monitored Argentine families with young children. *American Journal of Epidemiology* 130:300-308.

Gunasena S, Nakagomi O, Isegawa Y, Kaga E, Nakagomi T, Steele AD, Flores J, Ueda S (1993): Relative frequency of VP4 gene alleles among human rotaviruses recovered over a 10 year period (1982-1991) from Japanese children with diarrhea. *Journal of Clinical Microbiology* 31:2195-2197.

Gurwith M, Wenman W, Hinde D, Feltham S, Greenberg H (1981): A prospective study of rotavirus infection in infants and young children. *Journal of Infectious Diseases* 144:218-224.

Ho M-S, Glass RI, Pinsky PF, Anderson LJ (1988): Rotavirus as a cause of diarrheal morbidity and mortality in the United States. *Journal of Infectious Diseases* 158:1112-1116.

Holmes JL, Kirkwood CD, Gerna G, Clemens JD, Rao MR, Naficy AB, Abu-Elyazeed R, Savarino SJ, Glass RI, Gentsch JR (1999): Characterization of unusual G8 rotavirus strains isolated from Egyptian children. *Archives of Virology* 144:1381-1396.

Hoshino Y, Wyatt RG, Flores J, Midthun K, Kapikian AZ (1985): Serotypic characterization of rotaviruses derived from asymptomatic human neonatal infections. *Journal of Clinical Microbiology* 21:425-430.

Hoshino Y, Jones RW, Kapikian AZ (1998): Serotypic characterization of outer capsid spike protein VP4 of vervet monkey rotavirus SA11 strain. *Archives of Virology* 143:1233-1244.

Hundley F, McIntyre M, Clark B, Beards G, Wood D, Chrystie I, Desselberger U (1987): Heterogeneity of genome rearrangements in rotaviruses isolated from a chronically infected immunodeficient child. *Journal of Virology* 61:3365-3372.

Iturriza-Gomara M, Green J, Ramsay M, Brown D, Desselberger U, Gray JJ (2000): Molecular epidemiology of human group A rotavirus infections in the United Kingdom between 1995 and 1998. *Journal of Clinical Microbiology* 38:4394-4401.

Joensuu J, Koskenniemi E, Pang X-L, Vesikari T (1997): Randomised placebo-controlled trial of rhesus-human reassortant rotavirus vaccine for prevention of severe rotavirus gastroenteritis. *Lancet* 350:1205-1209.

Johansen K, Bennet R, Bondesson K, Eriksson M, Hedlund K-O, De Verdier Klingenberg K, Uhnoo I, Svensson L (1999): Incidence and estimates of the disease burden of rotavirus in Sweden. *Acta Paediatrica Supplement* 426:20-23.

Kanharidis P, Dyall-Smith ML, Holmes IH (1987): Marked sequence variation between segment 4 genes of human RV-5 and simian SA-11 rotavirus. *Archives of Virology* 93:111-121.

Kapikian AZ, Hoshino Y, Chanock RM (2001): Rotaviruses (Chapter 55). En: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, Martin MA, Lamb RA, Roizman B, Straus SE (eds). *Fields Virology*, Fourth Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1787-1833.

Kilgore PE, Unicomb LE, Gentsch JR, Albert MJ, McElroy CA, Glass RI (1996): Neonatal rotavirus infection in Bangladesh: strain characterization and risk factors for nosocomial infection. *Pediatric Infectious Disease Journal* 15:672-677.

Kramarz P, France EK, Destefano F, Black SB, Shinefield H, Ward JI, Chang EJ, Chen RT, Shatin D, Hill J, Lieu T, Ogren JM (2001): Population-based study of rotavirus vaccination and intussusception. *Pediatric Infectious Disease Journal* 20:410-416.

Lanata CF, Midthun K, Black RE, Butron B, Huapaya A, Penny ME, Ventura G, Jett-Goheen M, Davidson BL (1996): Safety, immunogenicity, and protective efficacy of one and three doses of the tetravalent rhesus rotavirus vaccine in infants in Lima, Peru. *Journal of Infectious Diseases* 174:268-275.

LeBaron CW, Lew J, Glass RI, Weber JM, Ruiz-Palacios GM, The Rotavirus Study Group (1990): Annual rotavirus epidemic patterns in North America: results of a five-year retrospective survey of 88 centers in Canada, Mexico, and the United States. *Journal of the American Medical Association* 264:983-988.

Leite JPG, Alfieri AA, Woods PA, Glass RI, Gentsch JR (1996): Rotavirus G and P types circulating in Brazil: characterization by RT-PCR, probe hybridization, and sequence analysis. *Archives of Virology* 141:2365-2374.

Li B, Hoshino Y, Gorziglia M (1996): Identification of a unique VP4 serotype that is shared by a human rotavirus (69M strain) and an equine rotavirus (H-2 strain). *Archives of Virology* 141:155-160.

Linhares AC, Moncao HC, Gabbay YB, de Araujo VL, Serruya AC, Loureiro ECB (1983): Acute diarrhea associated with rotavirus among children in Belize, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 77:384-390.

Linhares AC, Gabbay YB, Freitas RB, da Rosa ES, Mascarenhas JD, Loureiro EC (1989): Longitudinal study of rotavirus infections among children from Belem, Brazil. *Epidemiology and Infection* 102:129-145.

Linhares AC, Gabbay YB, Mascarenhas JDP, de Freitas RB, Olivera CS, Bellesi N, Monteiro TAF, Lins-Lainson Z, Ramos FP, Valente SA (1996): Immunogenicity, safety and efficacy of tetravalent rhesus-human, reassortant rotavirus vaccine Belem, Brazil. *Bulletin of the World Health Organization* 74:491-500.

Lipson SM, Zelinsky-Papez KA (1989): Comparison of four latex and three enzyme linked immunosorbent assays for the detection of rotavirus in fecal specimens. *Journal of Clinical Pathology* 92(5):637-643.

Lipson SM, Svenssen L, Goodwin L, Porti D, Danzi S, Pergolizzi R (2001): Evaluation of two current generation enzyme immunoassays and an improved isolation-based assay for rapid detection and isolation of rotavirus from stool. *Journal of Clinical Virology* 21(1):17-27.

Losonsky GA, Reymann M (1990): The immune response in primary asymptomatic and symptomatic rotavirus infection in newborn infants. *Journal of Infectious Diseases* 161:330-332.

Lynch M, O'Halloran F, Whyte D, Fanning S, Cryan B, Glass RI (2001): Rotavirus in Ireland: national estimates of disease burden, 1997 to 1998. *Pediatric Infectious Disease Journal* 20:693-698.

Masendycz PJ, Palombo EA, Gorrell RJ, Bishop RF (1997): Comparison of enzyme immunoassay, PCR, and type-specific cDNA probe techniques for identification of group A rotavirus gene 4 types. *Journal of Clinical Microbiology* 35:3104-3108.

Mata L, Simhon A, Padilla R, del Mar Gamboa M, Vargas G, Hernandez F, Mohs E, Lizano C (1983a): Diarrhea associated with rotaviruses, enterotoxigenic *Escherichia coli*, *Campylobacter*, and other agents in Costa Rican children 1976-1981. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 32:146-153.

Mata L, Simhon A, Urrutia JJ, Kronmal RA, Fernandez R, Garcia B (1983b): Epidemiology of rotaviruses in a cohort of 45 Guatemalan Mayan Indian children observed from birth to the age of three years. *Journal of Infectious Diseases* 148:452-461.

Matson DO, Estes MK, Burns JW, Greenberg HB, Taniguchi K, Urasawa S (1990): Serotype variation of human group A rotaviruses in two regions of the USA. *Journal of Infectious Diseases* 162:605-614.

Meng Z-D, Birch C, Heath R, Gust I (1987): Physical stability and inactivation of human and simian rotaviruses. *Applied and Environmental Microbiology* 53:727-730.

Miller MA, McCann L (2000): Policy analysis of the use of hepatitis B, Haemophilus influenzae type b-, Streptococcus pneumoniae-conjugate, and rotavirus vaccines, in national immunization schedules. *Health Economics* 9:19-35.

Molbak K, Fischer-Perch TK, Mikkelsen CS (2001): The estimation of mortality due to rotavirus infections in sub-Saharan Africa. *Vaccine* 19:393-395.

Mphahlele MJ, Steele AD (1995): Relative frequency of human rotavirus VP4 (P) genotypes recovered over a ten-year period from South African children with diarrhea. *Journal of Medical Virology* 47:1-5.

Mrukowicz JZ, Krobicka B, Duplaga M, Kowalska-Duplaga K, Domanski J, Szajewska, Kantecki M, Iwanczak F, Pytrus T (1999): Epidemiology and impact of rotavirus diarrhoea in Poland. *Acta Paediatrica Supplement* 426:53-60.

Murphy TV, Gargiullo PM, Massoudi MS, Nelson DB, Jumaan AO, Okoro CA, Zanardi LR, Setia S, Fair E, LeBaron CW, Schwartz B, Wharton M, Livingood JR (2001): Intussusception among infants given an oral rotavirus vaccine. *New England Journal of Medicine* 344:564-572.

Oishi I (1985): Three-year survey of the epidemiology of rotavirus, enteric adenovirus, and some small spherical viruses including Osaka-agent: associated with infantile diarrhea. *Biken Journal* 28:9-19.

Oishi I, Kimura T, Murakami T, Haruki K, Yamazaki K, Seto Y, Minekawa Y, Funamoto H (1991): Serial observation of chronic rotavirus infection in an immunodeficient child. *Microbiology and Immunology* 35:953-961.

Omoigenerale AI, Abiodun PO (1995): Nosocomial rotavirus infection in newborns. *East African Medical Journal* 72:220-221.

O’Ryan M, Matson D, Estes M, Bartlett A, Pickering L (1990): Molecular epidemiology of rotavirus in children attending day care centers in Houston. *Journal of Infectious Diseases* 162:810-816.

Padilla-Noriega L, Werner-Eckert R, Mackow ER, Gorziglia M, Larralde G, Taniguchi K, Greenberg HB (1993): Serologic analysis of human rotavirus serotypes P1A and P2 by using monoclonal antibodies. *Journal of Clinical Microbiology* 31:622-628.

Padilla-Noriega L, Mendez-Toss M, Menchaca G, Contrearras JF, Romero-Guido P, Puerto FI, Guiscafre H, Mota F, Herrera I, Cedillo R, Munoz O, Calva J, Guerrero ML, Coulson BS, Greenberg HB, Lopez S, Arias CF (1998): Antigenic and genomic diversity of human rotavirus VP4 in two consecutive epidemic seasons in Mexico. *Journal of Clinical Microbiology* 36:1688-1692.

Palombo EA, Masendycz PJ, Bugg HC, Bogdanovic-Sakran N, Barnes GL, Bishop RF (2000): Emergence of serotype G9 human rotaviruses in Australia. *Journal of Clinical Microbiology* 38:1305-1306.

Parashar UD, Holman RC, Clarke MJ, Bresee JS, Glass RI (1998): Hospitalizations associated with rotavirus diarrhea in the United States, 1993 through 1995: surveillance based on the new ICD-9-CM rotavirus-specific diagnostic code. *Journal of Infectious Diseases* 177:13-17.

Parashar UD, Chung MA, Holman RC, Ryder RW, Hadler JL, Glass RI (1999): Use of state hospital discharge data to assess the morbidity from rotavirus diarrhea and to monitor the impact of a rotavirus immunization program: a pilot study in Connecticut. *Pediatrics* 104:489-494.

Pedley S, Hundley F, Chrystie I, McCrae MA, Desselberger U (1984): The genomes of rotaviruses isolated from chronically infected immunodeficient children. *Journal of General Virology* 65:1141-1150.

Perez-Schael I, Daoud G, White L, Urbina G, Daoud N, Perez M, Flores J (1984): Rotavirus shedding by newborn children. *Journal of Medical Virology* 14:127-136.

Perez-Schael I, Guntinas MJ, Perez M, Pagone V, Rojas AM, Gonzalez R, Cunto W, Hoshino Y, Kapikian AZ (1997): Efficacy of the rhesus rotavirus-based quadrivalent vaccine in infants and young children in Venezuela. *New England Journal of Medicine* 337:1181-1209.

Prasad BV, Burns JW, Marietta E, Estes MK, Chiu W (1990): Localization of VP4 neutralization sites in rotavirus by 3-dimensional cryo-electron microscopy. *Nature* 343:476-479.

Ramachandran M, Das BK, Vij A, Kumar R, Bhambal SS, Kesari N, Rawat H, Bahl L, Thakur S, Woods PA, Glass RI, Bhan MK, Gentsch JR (1996): Unusual diversity of human rotavirus G and P genotypes in India. *Journal of Clinical Microbiology* 34:436-439.

Ramachandran M, Gentsch JR, Parashar UD, Jin S, Woods PA, Holmes JL, Kirkwood CD, Bishop RF, Greenberg HB, Urasawa S, Gerna G, Coulson BS, Taniguchi K, Bresee JS, Glass RI, The National Rotavirus Strain Surveillance System Collaborating Laboratories (1998): Detection and characterization of novel rotavirus strains in the United States. *Journal of Clinical Microbiology* 36:3223-3229.

Ramos AP, Stefanelli CC, Linhares RE, de Brito BG, Santos N, Gouvea V, de Cassia Lima R, Nozawa C (2000): The stability of porcine rotavirus in feces. *Veterinary Microbiology* 71 (1-2):1-8.

Rennels MB, Glass RI, Dennehy PH, Bernstein DI, Pichichero ME, Zito ET, Mack ME, Davidson BL, Kapikian AZ (1996): Safety and efficacy of high-dose rhesus-human reassortant rotavirus vaccines: report of the national multicenter trial. *Pediatrics* 97:7-13.

Report of the meeting on future directions for rotavirus vaccine research in developing countries, Geneva, 9-11 February 2000, Geneva, 2000 (unpublished document WHO/V&B/00.23; available from Vaccines and Biologicals, World Health Organization, CH-1211 Geneva 27, Switzerland and on the Internet at www.who.int/vaccines-documents/DocsPDF00/www531.pdf).

Reves RR, Hossain MM, Midthun K, Kapikian AZ, Naguib T, Zaki AM, DuPont HL (1989): An observational study of naturally acquired immunity to rotaviral diarrhea in a cohort of 363 Egyptian children. *American Journal of Epidemiology* 130:981-988.

Rodriguez WJ, Kim HW, Arrobio JO, Brandt CD, Chanock RM, Kapikian AZ, Wyatt RG, Parrott RH (1977): Clinical features of acute gastroenteritis associated with human reovirus-like agent in infants and young children. *Journal of Pediatrics* 91:188-193.

Rodriguez WJ, Kim HW, Brandt CD, Schwartz RH, Gardner MK, Jeffries B, Parrott RH, Kaslow RA, Smith JI, Takiff H (1985): Fecal adenoviruses from a longitudinal study of families in metropolitan Washington, DC: laboratory, clinical, and epidemiologic observations. *Journal of Pediatrics* 107:514-520.

Rodriguez WJ, Kim HW, Brandt CD, Schwartz RH, Gardner MK, Jeffries B, Parrott RH, Kaslow RA, Smith JI, Kapikian AZ (1987): Longitudinal study of rotavirus infection and gastroenteritis in families served by a pediatric medical practice: clinical and epidemiologic observations. *Pediatrics and Infectious Diseases* 6:170-176.

Ryan MJ, Ramsay M, Brown D, Gay NJ, Farrington CP, Wall PG (1996): Hospital admissions attributable to rotavirus infection in England and Wales. *Journal of Infectious Diseases* 174 (Suppl 1):S12-S18.

Sanchez R, Munoz P, Catalan P, Fernandez-Baca V, Rodriguez-Creixems M, Bouza E (1993): Evaluation of 2 fast methods for the detection of rotaviruses in fecal samples. *Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clinica* 11:314-316.

Santos N, Lima RCC, Pereira CFA, Gouvea V (1998): Detection of rotavirus types G8 and G10 among Brazilian children with diarrhea. *Journal of Clinical Microbiology* 36:2727-2729.

Santosham M, Moulton LH, Reid R, Croll J, Weatherholt R, Ward R, Forro J, Zito E, Mack M, Brenneman G, Davidson BL (1997): Efficacy and safety of high- dose rhesus-human reassortant rotavirus vaccine in Native American populations. *Journal of Pediatrics* 131:632-638.

Schorling JB, Wanke CA, Schorling SK, McAuliffe JF, Auxiliadora de Souza M, Guerrant RL (1990): A prospective study of persistent diarrhea among children in an urban Brazilian slum. *American Journal of Epidemiology* 132:144-156.

Simhon A, Mata L, Vives M (1985): Low endemicity and low pathogenicity of rotaviruses among rural children in Costa Rica. *Journal of Infectious Diseases* 152:1134-1142.

Simonsen L, Morens D, Elixhauser A, Gerber M, Van Raden M, Blackwelder W (2001): Effect of rotavirus vaccination programme on trends in admission of infants to hospital for intussusception. *Lancet* 358:1224-1229.

Sitbon M, Lecerf A, Garin Y, Ivanoff B (1985): Rotavirus prevalence and relationships with climatological factors in Gabon, Africa. *Journal of Medical Virology* 16:177-182.

Steele AD, Garcia D, Sears J, Gerna G, Nakagomi O, Flores J (1993): Distribution of VP4 gene alleles in human rotaviruses by using probes to the hyperdivergent region of the VP4 gene. *Journal of Clinical Microbiology* 31:1735-1740.

Sukumaran M, Gowda K, Maiya PP, Scrinivas TP, Kumar MS, Aijaz S, Reddy RR, Padilla L, Greenberg HB, Rao CD (1992): Exclusive asymptomatic neonatal infections by human rotavirus strains having subgroup I specificity and 'long' RNA electropherotype. *Archives of Virology* 126:239-251.

Szucs G, Uj M, Mihaly I, Deak J (1999): Burden of human rotavirus-associated hospitalizations in three geographic regions of Hungary. *Acta Paediatrica Supplement* 426:61-65.

Taniguchi K, Urasawa T, Morita Y, Greenberg HB, Urasawa S (1987): Direct serotyping of human rotavirus in stools using serotype 1-, 2-, 3-, and 4-specific monoclonal antibodies to VP7. *Journal of Infectious Diseases* 155:1159-1166.

Timenetsky M do C, Santos N, Gouvea V (1994): Survey of rotavirus G and P types associated with human gastroenteritis in Sao Paulo, Brazil, from 1986 to 1992. *Journal of Clinical Microbiology* 32:2622-2624.

Unicomb L, Coulson B, Bishop R (1989): Experience with an enzyme immunoassay for serotyping human group A rotaviruses. *Journal of Clinical Microbiology* 27:586-588.

Unicomb LE, Podder G, Gentsch JR, Woods PA, Hasan KZ, Faruque ASG, Albert MJ, Glass RI (1999): Evidence of high-frequency genomic reassortment of group A rotavirus strains in Bangladesh: emergence of type G9 in 1995. *Journal of Clinical Microbiology* 37:1885-1891.

United States Institute of Medicine (1986): The prospects of immunizing against rotavirus. En: *New vaccine development: diseases of importance in developing countries*. Washington DC: National Academy Press; D13-1 to D13-12.

Van Man N, Van Trang N, Lien HP, Trach DD, Thanh NTH, Tu PV, Long NT, Luan LT, Ivanoff B, Gentsch JR, Glass RI, Vietnam Rotavirus Surveillance Network (2001): The epidemiology and disease burden of rotavirus in Vietnam: sentinel surveillance at 6 hospitals. *Journal of Infectious Diseases* 183:1707-1712.

Velazquez FR, Matson DO, Calva JJ, Guerrero ML, Morrow AL, Carter-Campbell S, Glass RI, Estes MK, Pickering LK, Ruiz-Palacios GM (1996): Rotavirus infection in infants as protection against subsequent infections. *New England Journal of Medicine* 335:1022-1028.

Vesikari T, Rautanen T, Von Bonsdorff CH (1999): Rotavirus gastroenteritis in Finland: burden of diseases and epidemiological features. *Acta Paediatrica Supplement* 426:24-30.

Visser LE, Portero RC, Gay NJ, Martinez-Navarro JF (1999): Impact of rotavirus disease in Spain: an estimate of hospital admissions due to rotavirus. *Acta Paediatrica Supplement* 426:72-76.

Wilhelmi I, Mier C, Roman E, Colomina J, Prat J, Sanchez-Fauquier A (1999): The molecular epidemiology of the rotavirus in Spanish children. *Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clinica* 18:78.

WHO Department of Vaccines and Biologicals (1999). *WHO global action plan for laboratory containment of wild polioviruses*. (Note: Second edition, 2002, in press.) Geneva: World Health Organization. Document WHO/V&B/99.23; available from Vaccines and Biologicals, World Health Organization, CH-1211 Geneva 27, Switzerland and on the Internet at www.polioeradication.org.

Wood DJ, David TJ, Chrystie IL, Totterdell B (1988): Chronic enteric virus infection in two T-cell immunodeficient children. *Journal of Medical Virology* 24:435-444.

Wu H, Taniguchi K, Wakasugi F, Ukae S, Chiba S, Ohseto M, Hasegawa A, Urasawa T, Urasawa S (1994): Survey on the distribution of the gene 4 alleles of human rotaviruses by polymerase chain reaction. *Epidemiology and Infection* 112:615-622.

Wyatt RG, Yolken RH, Urrutia JJ, Mata L, Greenberg HB, Chanock RM, Kapikian AZ (1979): Diarrhea associated with rotavirus in rural Guatemala: a longitudinal study of 24 infants and young children. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 28:325-328.

Yeager M, Dryden KA, Olson NH, Greenberg HB, Baker TS (1990): Three dimensional structure of rhesus rotavirus by cryoelectron microscopy and image reconstruction. *Journal of Cell Biology* 110:2133-2144.

Yolken RH, Bishop CA, Townsend TR (1982): Infectious gastroenteritis in bone- marrow transplant recipients. *New England Journal of Medicine* 306:1009-1012.

Zaki AM, DuPont HL, El Alamy MA, Arafat RR, Amin K, Awad MM, Bassiouni L, Imam IZ, El Malih GS, El Marsafie A, Mohieldin MS, Naguib T, Rakha MA, Sidaros M, Wasef N, Wright CE, Wyatt RG (1986): The detection of enteropathogens in acute diarrhea in a family cohort population in rural Egypt. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 35:1013-1022.

Cuadro B. Hospitalizaciones específicas de las edades por gastroenteritis asociada con rotavirus en niños de 0 a 59 meses de edad

Grupo de edad (meses)	Número de hospitalizaciones por gastroenteritis	Número (%) de hospitalizaciones por gastroenteritis asociada con rotavirus	Número acumulativo (%) de hospitalizaciones por gastroenteritis por rotavirus
0-2			
3-5			
6-8			
9-11			
12-17			
18-23			
24-35			
36-47			
48-59			
Total			

Anexo 2: Formulario del informe de un caso de diarrea

Hospital informante: _____ Expediente médico No.: _____

Fecha del ingreso: ____/____/____ (día/mes/año)

Información del paciente

Apellido: _____ Nombre: _____

Dirección: _____ Ciudad: _____ Distrito: _____

Edad (meses): _____ Fecha de nacimiento ____/____/____ (día/mes/año)

Sexo: M F (marcar con un círculo la respuesta apropiada)

Información clínica

Temperatura: _____ °C

Vómito: _____ (Sí / No) No. de episodios/24 h: _____ Duración (días): _____

Diarrea: _____ (Sí / No) No. de episodios/24 h: _____ Duración (días): _____

Resultado

Fecha de alta o muerte: ____/____/____ (día/mes/año)

Información del laboratorio

Fecha de toma de la muestra de heces: ____/____/____ (día/mes/año)

¿Se identificaron bacterias en las heces? _____ (Sí / No) En caso afirmativo, ¿cuáles bacterias? _____

¿Se identificaron parásitos en las heces? _____ (Sí / No) En caso afirmativo, ¿cuáles parásitos? _____

Respecto al rotavirus, sírvase responder lo siguiente:

¿Se identificó el rotavirus en las heces? _____ (Sí / No) En caso afirmativo, ¿con cuál método? _____

¿Cuál fue el serotipo G (si se conoce)? _____

Persona que llenó el formulario:

Nombre: _____ Firma: _____

Fecha del informe: ____/____/____ (día/mes/año)

Anexo 3: Ejemplo del libro de registro de muestras de heces

Anexo 4: Vigilancia de laboratorio centinela regional del rotavirus

Un componente de laboratorio es esencial para cualquier actividad de vigilancia de rotavirus. Este puede incluir el apoyo solamente para un sistema hospitalario o puede incluir una red de laboratorios que notifica detecciones de rotavirus y un pequeño volumen de datos demográficos o de caracterización de cepas. El análisis que aparece a continuación se refiere a una red de laboratorios que notifica principalmente datos de detección. Sin embargo, sería útil con respecto al establecimiento de un componente de laboratorio de cualquier sistema, por ejemplo, la vigilancia hospitalaria centinela.

Selección de los laboratorios

Una red de laboratorios que notifique datos sobre el número de detecciones semanales de rotavirus podría usarse para evaluar las tendencias temporales y geográficas de la actividad de rotavirus en una región dada. Se debe hacer todo lo posible para que los laboratorios participantes sean representativos geográficamente, que procesen un número suficiente de muestras de heces cada mes y que usen métodos con sensibilidades y especificidades similares para la detección del rotavirus a fin de que los datos que proporcionen sean robustos y comparables. Si fuera posible, los laboratorios participantes deberían estar asociados con un hospital pediátrico o general para que los datos de laboratorio puedan vincularse con información clínica sobre los niños cuyas muestras de heces contienen rotavirus.

Sistema de vigilancia

Los laboratorios participantes deben usar un formulario de informe de casos para hacer un registro semanal del número total de muestras fecales procesadas, el tipo de prueba realizada (por ejemplo, prueba de detección rápida de antígenos, microscopia electrónica) y el número de muestras que dieron resultados positivos frente al rotavirus (véase el ejemplo de un formulario del informe de laboratorio de un caso). Aunque sería conveniente tener información demográfica sobre un subconjunto de pacientes que incluya edad, sexo, gravedad de la enfermedad y ubicación (es decir; si se trata de un paciente ambulatorio u hospitalizado), puede ser difícil obtenerla debido al trabajo adicional que tendría que realizar el personal de laboratorio y porque algunos laboratorios de referencia no pueden tener acceso a los datos en cuestión. Incluso sin información demográfica, los datos sobre el número de detecciones mensuales de rotavirus deben ser suficientes para evaluar las tendencias geográficas y temporales de la actividad del rotavirus. Para mejorar la comunicación, los laboratorios podrían proporcionar información semanal mediante un sistema automatizado de información telefónica o un sistema computadorizado en los países donde estos mecanismos estén disponibles.

Análisis de datos

Respecto a cada laboratorio debe hacerse un examen de los indicadores de la actividad del rotavirus, incluido el número de muestras fecales procesadas, el número de detecciones de rotavirus y el porcentaje de muestras positivas frente a este. Para examinar las tendencias estacionales se deben analizar las tasas de detección mensual o semanal de dicho virus. En las regiones donde el rotavirus presenta un carácter estacional diferenciado se debe definir el punto máximo de su actividad como las dos semanas consecutivas con el número mayor de detecciones del virus. El inicio de la estación del rotavirus debe definirse como la primera semana en la que el número de detecciones del virus excede el número medio de las detecciones semanales de todo el año. La duración de la temporada de rotavirus debe definirse como el número de semanas durante las cuales las detecciones exceden la mediana semanal. Las diferencias espaciales de la distribución cronológica de la actividad estacional del rotavirus deben examinarse mediante la evaluación de la distribución cronológica de su actividad máxima en cada sitio. Estas podrían trazarse como mapas topográficos mediante programas avanzados de computación.

Caracterización de cepas

La caracterización de las cepas del rotavirus prevalente localmente antes de emprender un programa de vacunación, generalmente mediante la serotipificación, es útil para evaluar la repercusión probable de una vacuna y la eficacia de un programa, y para comprender los motivos potenciales por los que el programa podría fracasar. La caracterización de cepas requiere personal de laboratorio capacitado y equipo especial, y necesita un uso relativamente intensivo de recursos. Por consiguiente, no es de esperarse que todos los sitios de vigilancia puedan incorporarla en sus sistemas localmente o que toda muestra positiva frente al rotavirus pueda ser objeto de caracterización adicional. No obstante, existe la posibilidad de establecer colaboraciones o redes regionales que permitan que otros laboratorios interesados caractericen las cepas.

Selección de muestras para caracterización adicional

Se debe elegir una muestra de heces positiva frente al rotavirus obtenida en la vigilancia hospitalaria o basada en el laboratorio para la caracterización adicional. El tipo y el tamaño de la muestra dependen del número de pruebas positivas, los recursos de la institución en cuestión, el número y la heterogeneidad de los sitios de vigilancia, la variabilidad de las cepas en estudios anteriores y factores de otro tipo. Se deben cubrir todos los sitios de un sistema de vigilancia para que los resultados sean lo más representativos posible. Se deben examinar muestras tomadas a lo largo del año. Deben elegirse solo las muestras que tengan un volumen lo suficientemente grande para realizar varias pruebas y evitar que se acabe el material antes de terminar la prueba adecuada. La selección debe ser lo más aleatoria y estandarizada posible para disminuir el sesgo de selección y debe ser sencilla para evitar la pérdida de datos y lograr el cumplimiento. Por ejemplo, un sitio podría incluir las tres primeras heces positivas frente al rotavirus cada mes en cada laboratorio u hospital participante.

Repaso de los métodos

Con mayor frecuencia, los rotavirus se caracterizan respecto a sus proteínas VP7 (G) y VP4 (P). Estos son los antígenos víricos a los que se dirigen anticuerpos neutralizantes y son la base de la nomenclatura de rotavirus. Además, las vacunas que se están elaborando se han diseñado para inducir protección contra los virus con tipos G y P específicos, por lo cual el conocimiento de los tipos prevalentes puede resultar importante para la toma de decisiones sobre la vacuna óptima para uso local.

La caracterización local de cepas debe incluir la serotipificación respecto a G mediante el inmunoensayo enzimático con anticuerpos monoclonales específicos de tipos frente a los serotipos predominantes (generalmente G1-G4) y posiblemente frente a otras cepas, según datos locales anteriores. Dado que la tipificación respecto a P requiere el uso de la reacción en cadena de la polimerasa y la hibridación de sondas, puede ser demasiado difícil de realizar respecto a todas las muestras positivas frente al rotavirus analizadas. Sin embargo, debe considerarse cuando se trata de un subconjunto. Otro método común para caracterizar los rotavirus es la electroforesis de geles de poliacrilamida, que puede incluirse en un algoritmo de prueba, aunque probablemente es menos útil que la serotipificación respecto a G.

Ejemplo del formulario de datos para uso en la vigilancia de laboratorio

Sistema de notificación de laboratorio sobre el rotavirus: informe semanal

Número de identificación del laboratorio: _____

Semana de vigilancia		Prueba usada (Tipo de prueba y fabricante)	Número de pruebas realizadas	Número de resultados positivos frente al rotavirus
Fecha de inicio	Fecha de conclusión			
__/__/__	__/__/__			
__/__/__	__/__/__			
__/__/__	__/__/__			
__/__/__	__/__/__			
__/__/__	__/__/__			
__/__/__	__/__/__			
__/__/__	__/__/__			
__/__/__	__/__/__			
__/__/__	__/__/__			
__/__/__	__/__/__			

Parte II:
**Protocolo genérico para una encuesta comunitaria
sobre la utilización de servicios de atención de salud
para la gastroenteritis en niños
menores de 5 años de edad**

Richard B. Biritwum
Departamento de Salud Comunitaria
Facultad de Medicina de Ghana, Accra, Ghana

Joseph Bresee
Centro Colaborador de la OMS para Rotavirus y los Agentes de Gastroenteritis Vírica
Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades, Atlanta, EUA

1. Introducción

El rotavirus es una causa principal de diarrea aguda en los niños de todo el mundo y una causa principal de defunciones por diarrea en la primera infancia (De Zoysa y Feachem 1985, Miller y McCann 2000). Las mejoras del saneamiento y la calidad de los alimentos y el agua no han logrado cambiar la incidencia de la infección rotavírica en muchos países. Se considera que el uso de vacunas constituye la intervención que tiene probabilidades de prevenir la enfermedad, y varias vacunas antirrotavíricas posibles se están sometiendo a pruebas clínicas (*Vaccines and Biologicals 2000*).

Con miras a preparar a los países para que tomen decisiones sobre la introducción de nuevas vacunas antirrotavíricas, en la parte I de este documento se describe un método para la vigilancia hospitalaria de la gastroenteritis por rotavirus en niños menores de 5 años de edad. Como complemento para la vigilancia hospitalaria, es importante determinar las tendencias de utilización de hospitales por parte de las personas que se ocupan de los niños con diarrea grave en las zonas de captación. Se ha notificado que los comportamientos de búsqueda de atención y los tratamientos para los niños con enfermedades diarreicas varían considerablemente de un país a otro. Las encuestas recientes indican una mayor tendencia a buscar atención para la diarrea fuera del hogar (*Mururi et al. 1996*). Por esta razón, es importante conocer los entornos en los que se recibe atención para la gastroenteritis y las actitudes y prácticas de la población respecto a la gastroenteritis pediátrica y su tratamiento cuando se trata de diseñar el mejor estudio posible de la carga de morbilidad rotavírica y comparar los datos entre los estudios en diferentes entornos.

2. Objetivos

La finalidad principal de esta encuesta comunitaria es determinar la proporción de niños con diarrea grave que reciben tratamiento en hospitales que se han propuesto para que participen en un estudio de vigilancia de gastroenteritis por rotavirus. Esta información proporciona un medio de determinar si ciertos hospitales serían sitios apropiados para tal vigilancia. Puesto que la meta de la vigilancia hospitalaria es captar casos graves de gastroenteritis por rotavirus que ocurren en niños menores de 5 años de edad, las tendencias de búsqueda de atención de la población pertinente son un indicador importante de la idoneidad de los entornos para actividades de vigilancia. La encuesta está diseñada para revelar i) qué medidas adoptaron las madres cuyos hijos padecían diarrea grave durante un período determinado de un mes antes de la encuesta; y ii) qué harían las madres si sus hijos sufrían de diarrea grave.

Los resultados de esta encuesta ofrecerán un cálculo de la proporción de la gastroenteritis en niños menores de 5 años de edad cuya enfermedad pasaría inadvertida por un sistema de vigilancia hospitalaria. Esta información puede usarse para ajustar los datos hospitalarios y representar mejor la carga verdadera de morbilidad en la comunidad.

3. Métodos

3.1 Diseño del estudio

La encuesta usa un procedimiento de muestreo por conglomerados para seleccionar los hogares dentro de la zona de referencia de los hospitales propuestos para el estudio. La madre (u otra persona principal que se ocupa del niño) de un niño elegible se selecciona para que participe en la entrevista con un cuestionario estándar (anexo 1). La técnica de muestreo por conglomerados permite muestrear un número pequeño de miembros de la población destinataria al tiempo que se proporcionan datos que son estadísticamente válidos. Es necesario conocer la zona de captación de los hospitales propuestos para el estudio, el número de unidades de muestreo dentro de la zona de captación y el tamaño de la población en cada unidad de muestreo.

La zona de referencia o de captación hospitalaria servirá de marco de muestreo. Para muchos hospitales, la zona de captación geográfica puede definirse administrativamente con un mapa disponible para mostrar las zonas administrativas donde reside la población de captación. Cuando la zona de captación hospitalaria no está claramente definida, el investigador tendrá que considerar factores como la distancia desde los hospitales o las direcciones que aparecen en los registros de los niños ingresados a los hospitales propuestos para el estudio durante un período especificado. Una vez que se ha definido el marco de muestreo, el investigador tendrá que determinar todas las unidades de muestreo identificables dentro de esa zona geográfica. Las unidades de muestreo pueden definirse de diversas maneras: la definición de una unidad de muestreo depende en última instancia del tipo de información disponible localmente. Ejemplos de unidades de muestreo de encuestas anteriores incluyen manzanas de la ciudad en zonas urbanas, aldeas en zonas rurales, zonas de censo, vecindarios y otros distritos administrativos. Dentro del marco de muestreo, cada zona debe incluirse en una de las unidades de muestreo. El mapeo del marco de muestreo y de las unidades de muestreo ayudará a evitar que se pasen por alto zonas geográficas.

Para este protocolo genérico hemos seleccionado un ejemplo adaptado (con algunas modificaciones) de una zona submetropolitana de Accra, Ghana, atendida por un hospital público grande. Esta zona geográfica es el marco de muestreo de la encuesta. Dentro del marco de muestreo hay 16 bloques administrativos, que son las unidades de muestreo para el estudio. La figura 1 ilustra un mapa con el marco de muestreo de la encuesta, la ubicación del hospital (marcado con una "H") y las 16 unidades de muestreo.

Es necesario conocer el cálculo más actual de la población respecto a cada unidad de muestreo. Si ha habido un censo reciente, esto será fácil. En la práctica, esto puede ser difícil si ha transcurrido mucho tiempo desde que se efectuó el último censo. Lo principal es cerciorarse de que los tamaños relativos de las unidades de muestreo sean aproximadamente correctos.

**Figura 1. Mapa del marco de muestreo de la encuesta
y las 16 unidades de muestreo; la “H” indica el hospital**

(VER PÁGINA SIGUIENTE)

3.2 Tamaño de la muestra

La encuesta bien establecida de cobertura del PAI de 30 conglomerados usa un tamaño de la muestra de 210 niños, es decir, 30 conglomerados de siete niños cada uno (*Expanded Programme on Immunization 1991, Henderson y Sundaresan 1982, Lemeshow y Robinson 1985*). Esto se basa en un nivel previsto de cobertura de vacunación de 50%, una precisión de 10% y un nivel de confianza de 95%. Se han aplicado varias modificaciones del procedimiento a diferentes situaciones (*Malilay et al. 1996*).

En la presente encuesta se supone que la prevalencia de la diarrea grave en una población de niños menores de 5 años de edad es 30% y que 90% de las madres llevarían a sus hijos con diarrea grave al hospital. Para una precisión de 5% y un nivel de confianza de 95%, se necesita un tamaño de la muestra de 600. Se presentan detalles adicionales del cálculo del tamaño de la muestra en el anexo 2.

El tamaño de la muestra de 600 se cubrirá con entrevistas de 20 madres en cada uno de los 30 conglomerados.

3.3 Selección de 30 conglomerados

Se debe trazar un cuadro con cuatro columnas con el nombre de cada unidad de muestreo en la primera columna y el tamaño de la población o el tamaño calculado de la población en la segunda columna (véase el cuadro 1). La tercera columna es para la población acumulativa, que será calculada por el investigador. La cuarta columna indica los conglomerados particulares seleccionados para la encuesta sobre la base de un intervalo de muestreo (S) y una selección de un número aleatorio (N) entre 1 y el intervalo de muestreo.

Figure 1. Map of showing the survey sampling frame and the 16 sampling units, H indicates the hospital



3.2 Sample size

The well-established EPI 30-cluster coverage survey uses a sample size of 210 children, i.e. 30 clusters of seven children each (*Expanded Programme on Immunization 1991, Henderson and Sundaresan 1982, Lemeshow and Robinson 1985*). This is based on an anticipated level of immunization coverage of 50%, a precision of 10% and a 95% confidence level. Several modifications of the procedure have been applied to different situations (*Malilay et al. 1996*).

Cuadro 1. Lista de las unidades de muestreo dentro del marco de muestreo, con su población y población acumulativa

Unidades de muestreo	Población	Población acumulativa	Conglomerados seleccionados para la encuesta
Chorkor	34 846	34 846	
Zongo Inferior	17 904	54 750	
Mamprobi	37 300	91 050	
Laterbiokorshie	15 925	106 975	
Línea Zamrama	12 145	119 120	
Banana-inn	34 840	153 960	
Zongo Superior	15 440	169 400	
Línea del Ayuntamiento	12 082	181 482	
Sukura/Rassia	12 875	194 357	
Mabruk	18 717	213 074	
Agege	10 582	223 656	
Abose-Okai	10 807	234 463	
Dansoman Antiguo	19 000	253 463	
Mataheko	73 000	326 463	
Korle Gonno	90 100	416 563	
Korle Bu	4 200	420 763	
Gbebu	29 837	450 600	
Total	450 600		

En el ejemplo dado en el cuadro 1 la población total del marco de muestreo es 450 600. El intervalo de muestreo S se obtiene al dividir la población total por 30.

$$S = 450\,600/30 = 15\,020.$$

Luego, el investigador deberá seleccionar un número aleatorio de una tabla de números aleatorios (anexo 3). Se seleccionan una columna y una fila aleatoriamente según las instrucciones. El número aleatorio de cinco dígitos que se encuentra en la intersección es el punto de partida. El primer número que queda entre 1 y el intervalo de muestreo se selecciona como N. En este ejemplo, seleccionamos aleatoriamente la columna 3 y la fila 21, con lo que obtuvimos el número 26 382 como punto de partida. En la misma fila 21, el primer número aleatorio a la derecha del punto de partida que es igual o inferior al intervalo de muestreo (S) es el 01100, ubicado en la columna 8.

Por lo tanto, $N = 1100$.

Los cálculos para seleccionar los 30 conglomerados se esbozan en el cuadro 2. El primero de los 30 conglomerados que se va a seleccionar está ubicado en la primera unidad de muestreo con una población acumulativa igual o superior a N . El segundo conglomerado está ubicado en la unidad de muestreo con una población acumulativa que contiene el número aleatorio más un intervalo de muestreo ($N + S$). El tercer conglomerado está ubicado en la unidad de muestreo cuya población acumulativa es igual o superior a ($N + S + S$). Los conglomerados restantes se seleccionan de la misma manera agregando el intervalo de muestreo a la cifra anterior y encontrando la unidad de muestreo correspondiente con una población acumulativa igual o superior a la suma calculada.

Cuadro 2. Cálculos para la selección de los 30 conglomerados

Número del conglomerado	Fórmula	Cálculo	Populación acumulativa	Ubicación del conglomerado
1	N	1100	1 100	Chorkor
2	$N + S$	$1100 + 15\ 020$	16 120	Chorkor
3	$N + S + S$	$1100 + (2 * 15\ 020)$	31 140	Chorkor
4	$N + S + S + S$	$1100 + (3 * 15\ 020)$	46 160	Zongo Inferior
5	$N + S + S + S + S$	$1100 + (4 * 15\ 020)$	61 180	Mamprobi
.				
.				
29	$N + (28 * S)$	$1100 + (28 * 15\ 020)$	421 660	Gbebu
30	$N + (29 * S)$	$1100 + (29 * 15\ 020)$	436 680	Gbebu

El cuadro 3 recoge los resultados finales del procedimiento de selección de conglomerados. Cuando dos o más conglomerados están ubicados en una sola unidad de muestreo, como en Chorkor, Mamprobi, Laterbiokorshie, etc. en el ejemplo, será necesario subdividir la unidad de muestreo en el número de conglomerados esperados, que no debe superponerse.

Cuadro 3. Los 30 conglomerados seleccionados para la encuesta

Unidades de muestreo	Población	Población acumulativa	Conglomerados seleccionados para la encuesta
Chorkor	34 846	34 846	1,2,3
Zongo Inferior	17 904	54 750	4
Mamprobi	37 300	91 050	5,6
Laterbiokorshie	15 925	106 975	7,8
Línea Zamrama	12 145	119 120	
Banana-inn	34 840	153 960	9,10,11
Zongo Superior	15 440	169 400	12
Línea del Ayuntamiento	12 082	181 482	13
Sukura/Rassia	12 875	194 357	
Mabruk	18 717	213 074	14,15
Agege	10 582	223 656	
Abose-Okai	10 807	234 463	16
Dansoman Antiguo	19 000	253 463	17
Mataheko	73 000	326 463	18,19,20,21,22
Korle Gonno	90 100	416 563	23, 24, 25, 26, 27, 28
Korle Bu	4 200	420 763	
Gbebu	29 837	450 600	29,30
Total	450 600		

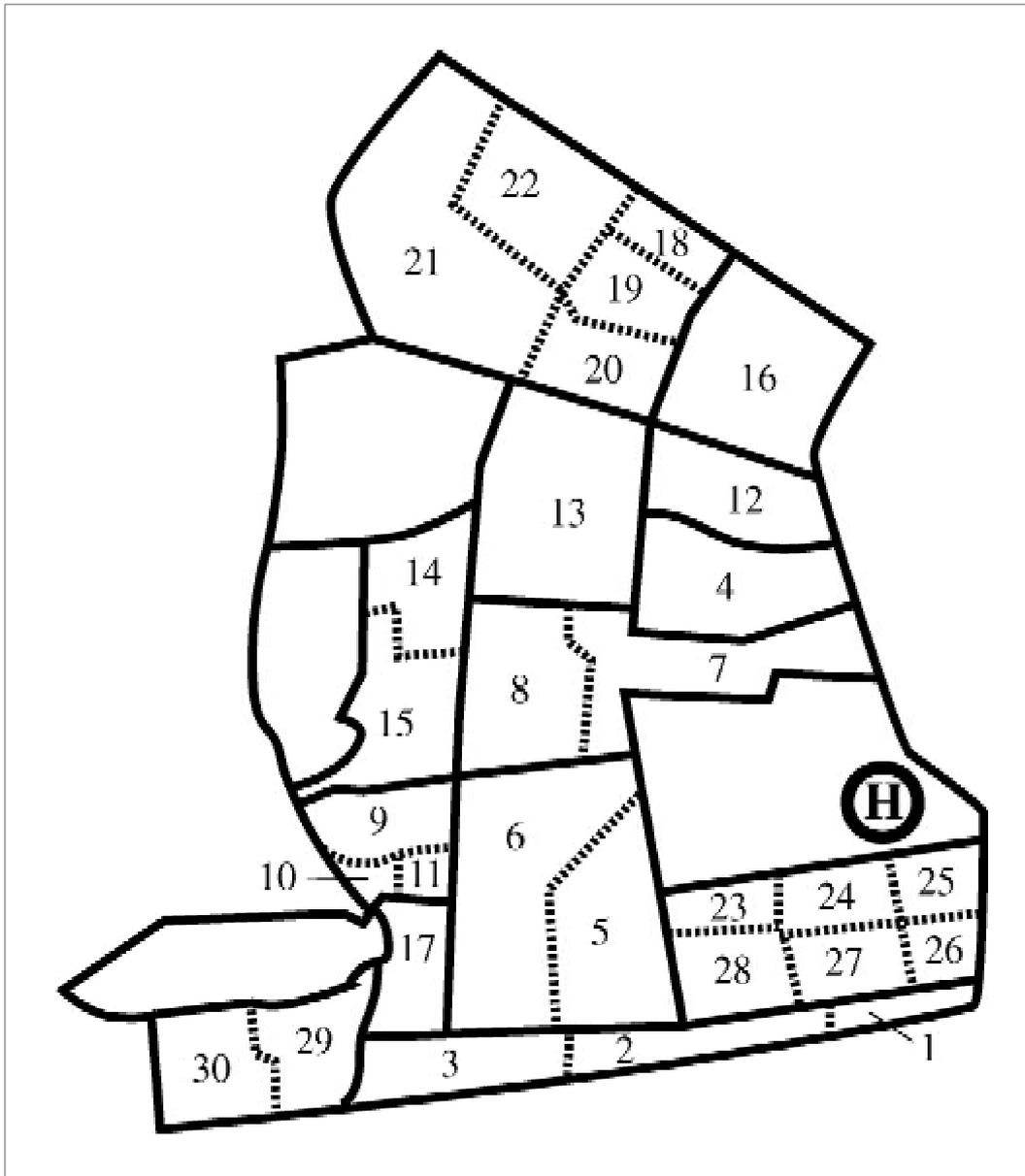
En nuestro ejemplo hay varios conglomerados ubicados dentro de una sola unidad de muestreo. En esta situación, la unidad de muestreo deberá subdividirse y se deberá revisar el mapa. La figura 2 presenta un mapa que indica la ubicación de los 30 conglomerados; cuando se requería, se subdividieron las unidades de muestreo.

Figura 2. Mapa de las ubicaciones de los 30 conglomerados dentro del marco de muestreo; la “H” indica el hospital

(VER PÁGINA SIGUIENTE)

In our example there are several clusters located within a single sampling unit. In this situation, the sampling unit will need to be subdivided, and the map revised. Figure 2 shows a map which indicates the location of all 30 clusters; where required, sampling units have been subdivided.

Figure 2. Map showing the locations of the 30 clusters within the sampling frame, H indicates the hospital



3.5 Selección del primer hogar

En cada unidad de muestreo (o subdivisión de la unidad de muestreo) donde se ha seleccionado un conglomerado, se elige una casa aleatoriamente como el hogar inicial de la encuesta. Un hogar se define como un grupo de personas que viven y comen juntos. Una casa puede contener uno o más hogares.

Para seleccionar el hogar inicial use los siguientes tres pasos. Paso 1: se busca una sola ubicación en el conglomerado seleccionado; este podría ser un cine, mercado, restaurante o sitio concurrido. Paso 2: se elige aleatoriamente uno de los caminos o rutas que unen la ubicación. Paso 3: se selecciona aleatoriamente la primera casa para la encuesta a lo largo del camino o la ruta que se seleccionó, en el lado izquierdo o derecho.

3.6 Selección aleatoria

Se puede usar el método de papeleta para seleccionar el camino o la casa aleatoriamente. Si hay cuatro caminos o calles que conducen a la ubicación, se usan tiras de papel, cada una con el nombre de uno de los caminos escritos en ella. Las tiras de papel se colocan en un sobre para que no se vean los nombres y se le pide a alguien que seleccione una tira. El mismo método puede usarse para las casas en el camino seleccionado (por ejemplo, si hay nueve casas a lo largo de una longitud razonable del camino seleccionado, se puede seleccionar una de ellas como la casa inicial mediante una papeleta). Se realizan entrevistas en todos los hogares elegibles de la casa seleccionada mediante el cuestionario (anexo 1).

3.7 Población

La población de estudio incluye a los niños menores de 5 años de edad (es decir menores de 60 meses) que son residentes dentro del marco de muestreo del estudio, que es la zona de captación de los hospitales que se considera(n) para el estudio de vigilancia de rotavirus.

3.8 Marco cronológico

Las preguntas de la encuesta son de dos tipos. Primero, se pregunta a las madres acerca de las enfermedades que han sufrido cualquiera de sus hijos menores de 5 años de edad y que han ocurrido durante el mes anterior. Segundo, se pregunta a las madres qué harían si su hijo presentara diarrea grave con deshidratación. La gastroenteritis por rotavirus en los niños tiende a ser estacional en las regiones templadas, y su incidencia máxima ocurre en el invierno. En las zonas tropicales, el carácter estacional del rotavirus es menos diferenciado, aunque a menudo ocurre un punto máximo leve en la estación seca (Biritwum et al. 1984, Molbak et al. 2001). Por consiguiente sería prudente que los investigadores consultaran a los pediatras de los hospitales propuestos para el estudio a fin de determinar cuándo ocurre la estación local de rotavirus. Si se lleva a cabo la encuesta durante la temporada alta habrá probabilidades de obtener más casos y las madres podrán recordar mejor los sucesos.

3.9 Administración del cuestionario de la encuesta

El cuestionario de la encuesta se reproduce en el anexo 1. Los datos recopilados incluyen información acerca del hogar y la estructura familiar, enfermedades diarreicas recientes en los niños menores de 5 años de edad que viven en el hogar, prácticas de atención para las enfermedades diarreicas y utilización de la atención de salud para la diarrea grave hipotética en los niños. Es probable que sea necesario modificar las preguntas a fin de que sean apropiadas para cada sitio. Sin embargo, para comparar los sitios, los investigadores deben tratar de adherirse a los elementos principales del cuestionario. En algunos países, por ejemplo, no pueden conocerse las fechas de nacimiento de los niños y tal vez sea necesario usar un calendario de eventos para calcular las edades.

La primera pregunta de la encuesta se hace para determinar si vive algún niño menor de 5 años de edad en el hogar en cuestión. Si la respuesta es negativa, esto se debe marcar en el cuestionario y el entrevistador debe proceder al próximo hogar. Se usa un cuestionario nuevo para cada hogar, de modo que cada hogar, ya sea que tenga niños de la edad apropiada o no los tenga, tiene un cuestionario en la base de datos. No obstante, solo los cuestionarios que tienen que ver con niños menores de 5 años de edad cuentan como parte del total de 600 que se requiere. El cuestionario siempre debe administrarse a una madre o a la persona principal que se ocupa de los niños, ya que estas tienen muchas probabilidades de proporcionar los mejores datos para la encuesta. Si la madre o la persona principal que se ocupa de los niños no está disponible, esto se marca en el cuestionario y el entrevistador procede al próximo hogar. Se debe dejar un mensaje en cada hogar de donde no se ha obtenido ninguna respuesta, en el que se indique cuándo es probable que el entrevistador regrese. Si no se obtiene ninguna respuesta después de hacer dos visitas adicionales el hogar se reemplaza por el que esté después del último hogar donde se ha hecho la entrevista en el conglomerado pertinente.

Después de terminar el cuestionario en el primer hogar, se seleccionan los hogares que quedan más cerca del hogar donde se ha llevado a cabo la entrevista (*Henderson y Sundaresan 1982, Lemeshow y Robinson 1985*). Las entrevistas se realizan en todos los hogares elegibles de una casa hasta que se llegue al tamaño de la muestra esperado de 20 por conglomerado.

4. Resultados y análisis de los datos

La pregunta de interés principal es la siguiente: “¿Cuál es la proporción de niños menores de 5 años de edad con diarrea grave que a la larga reciben atención en uno de los hospitales que participan en el estudio de vigilancia de rotavirus?” Esta información permite evaluar la idoneidad de los hospitales para que participe(n) en el estudio de vigilancia de rotavirus. Los resultados de la encuesta también pueden permitir calcular la verdadera incidencia de la diarrea por rotavirus grave en la comunidad a fines del período de vigilancia hospitalaria.

4.1 Definiciones

Las siguientes pueden usarse como definiciones de **diarrea grave**.

Cuadro 4. Definiciones de diarrea grave

1	Diarrea acuosa aguda (más de tres deposiciones flojas o acuosas en un período de 24 horas, sin sangre) y por lo menos dos de los siguientes signos: · letargia o pérdida del conocimiento; · ojos hundidos; · incapacidad para beber, o capacidad inadecuada para beber.
2	Nombre que se da localmente a la diarrea grave (según corresponda).
3	El niño ha recibido rehidratación intravenosa.

Si *cualquiera* de las definiciones anteriores es aplicable, se puede considerar que el niño ha padecido diarrea grave.

4.2 Análisis de datos

El conjunto de datos consta de las 600 encuestas llenadas, y se debe realizar un análisis de frecuencia inicial respecto a todas las variables para detectar datos perdidos o incompletos.

A. La proporción de casos de diarrea grave que recibieron tratamiento en los hospitales que participaron en la vigilancia

Numerador = número de casos que usaron los hospitales participantes (**P13**).

Denominador = número de niños que han padecido diarrea grave durante el período especificado (variable que va a crearse de **P9**, **P10** y **P11**).

Condiciones

1. “Sí” respecto a **P9** y **P10a** con **P10b** o **P10h**.
2. “No” respecto a **P11**.

B. Cálculo de la proporción de madres que usarían los hospitales participantes si sus hijos padecieran diarrea grave

Numerador = número de madres que elegirían un hospital participante.

Denominador = número de madres entrevistadas.

Debe tenerse en cuenta que las madres que elegirían un hospital no participante u otra fuente de atención de salud, como un consultorio o una farmacia, a la larga podrían referirse a un hospital participante. Por consiguiente, los cálculos anteriores deben considerarse valores mínimos.

Todos estos cálculos pueden obtenerse mediante paquetes estadísticos existentes como EPI INFO y SPSS, o pueden calcularse manualmente. Respecto a cada cálculo debe determinarse un intervalo de confianza de 95%.

4.3 Uso del cálculo

El cálculo proporciona una medida de la magnitud relativa de los casos manejados en los hospitales participantes. Sin embargo, independientemente del nivel de casos vistos en los hospitales, las actividades de vigilancia, que están diseñadas para vigilar las tendencias, siguen siendo válidas si las tendencias de uso de los establecimientos no cambian. La tasa de incidencia puede calcularse si se hace un recuento de todos los niños menores de 5 años de edad con diarrea grave en el período de un mes y de todos los niños pertenecientes a este grupo de edad en la población. No obstante, es probable que en muchas situaciones el tamaño de la muestra de esta encuesta sea demasiado pequeño para hacer cualquier cálculo significativo de la incidencia.

4.4 Otra información del cuestionario

El resto de los datos del cuestionario debe analizarse para obtener más información sobre los factores relacionados con las causas y la calidad del tratamiento de la diarrea grave. Por ejemplo, la situación socioeconómica de la familia puede influir en el nivel de la atención proporcionada (de **P6** a **P8**, **P19**, **P20**). La calidad de la atención médica proporcionada durante los episodios de diarrea grave puede deducirse de las preguntas que van de **P14** a **P18**.

5. Puntos que se deben considerar al planificar la encuesta

Varios puntos deben considerarse al comienzo de la fase de planificación.

1. La encuesta debe examinarla y aprobarla el comité ético local apropiado.
2. El líder del equipo debe tener experiencia en el diseño de estudios y en la realización y análisis de encuestas.
3. Debe disponerse de un mapa o esquema de la zona de captación hospitalaria (el marco de muestreo para la encuesta), en el que se indiquen claramente las unidades de muestreo. Además, el investigador necesitará conocer los tamaños de la población calculados respecto a cada unidad de muestreo en el marco de muestreo.
4. El personal de la encuesta debe adiestrarse cuidadosamente mediante áreas de encuestas piloto o escenificaciones.
5. Debe haber instrucciones claras para el personal de la encuesta relativas a la selección de los hogares.
6. Cuando el personal de la encuesta ha ido a un hogar donde la madre (o persona principal que se ocupa) de un niño menor de 5 años de edad no está presente, se debe dar información clara a las personas que viven en el hogar acerca de la fecha en que el entrevistador va a volver a hacer una visita.
7. El líder del equipo debe cerciorarse de la disponibilidad de personas con conocimientos relativos a la entrada y el análisis de datos.

Referencias

Biritwum RB, Isomura S, Yamaguchi H, Toba M, Mingle JA (1984): Seroepidemiological study of rotavirus infection in rural Ghana. *Annals of Tropical Paediatrics* 4(4):237-240.

De Zoysa I, Feachem RG (1985): Interventions for the control of diarrhoeal disease among young children: rotavirus and cholera immunization. *Bulletin of the World Health Organization* 63:569-583.

Expanded Programme on Immunization (1991): *The EPI Coverage Survey: Training for Mid Level Managers*. Document WHO/EPI/MLM/91.10. Geneva: World Health Organization.

Henderson RH, Sundaresan T (1982): Cluster sampling to assess immunization coverage: a review of experience with a simplified sampling method. *Bulletin of the World Health Organization* 60(2):253-260.

Lemeshow S, Robinson D (1985): Surveys to measure programme coverage and impact: a review of the methodology used by the Expanded Programme on Immunization. *World Health Statistics Quarterly* 38(1):65-75.

Malilay J, Flanders WD, Brogan D (1996): A modified cluster-sampling method for post-disaster rapid assessment of needs. *Bulletin of the World Health Organization* 74(4):399-405.

Miller MA, McCann L (2000): Policy analysis of the use of hepatitis B, Haemophilus influenzae type b-, Streptococcus pneumoniae-conjugate, and rotavirus vaccines, in national immunization schedules. *Health Economics* 9:19-35.

Molbak K, Fischer TK, Mikkelsen CS (2000): The estimation of mortality due to rotavirus infections in sub-Saharan Africa. *Vaccine* 19(4-5):393-395.

Muhuri PK, Anker M, Bryce J (1996): Treatment patterns for childhood diarrhoea: evidence from demographic and health surveys. *Bulletin of the World Health Organization* 74(2):135-146.

WHO Department of Vaccines and Biologicals (2000). *Report of the meeting on future directions for rotavirus vaccine research in developing countries, Geneva, 9-11 February 2000*. Geneva: World Health Organization. Document WHO/V&B/00.23; available from Vaccines and Biologicals, World Health Organization, CH-1211 Geneva 27, Switzerland and on the Internet at www.who.int/vaccines-documents/DocsPDF00/www531.pdf.

7. ¿Cuál es la ocupación del padre? _____

8. ¿Posee usted alguno de los siguientes artículos?
(Tal vez sea necesario modificar esta lista para adaptarla a la situación local.)

Radio	Sí	No
Televisión	Sí	No
Motocicleta	Sí	No
Refrigerador	Sí	No
Automóvil o camión	Sí	No

Ahora voy a preguntarle acerca de enfermedades recientes, si las hay, que [*nombre del niño*] ha tenido.

9. ¿Ha tenido [*nombre del niño*] una enfermedad con diarrea en el último mes? Sí No

En caso negativo, pase a la parte 2, P22.

10. En caso afirmativo, durante esta enfermedad ¿tuvo el niño lo siguiente?

a. Más de 3 deposiciones sueltas o acuosas en un día	Sí	No
b. Más sed	Sí	No
c. Irritabilidad o agitación	Sí	No
d. Ingesta reducida de líquidos o incapacidad de beber	Sí	No
e. Actividad reducida o letargia	Sí	No
f. Pérdida del conocimiento	Sí	No
g. Micción reducida	Sí	No
h. Deshidratación (ojos hundidos)	Sí	No
i. Sangre en heces	Sí	No
j. Erupciones cutáneas	Sí	No

11. ¿Duró la enfermedad más de 14 días? Sí No

12. ¿Buscó atención médica para [*nombre del niño*] fuera de su hogar? Sí No

Si usted buscó atención fuera de su hogar, ¿cuáles fueron las razones?

- a. El consultorio se encuentra demasiado lejos de la casa
- b. No pudo encontrar transporte
- c. El costo del viaje era demasiado elevado
- d. El costo del tratamiento era demasiado elevado
- e. No podía dejar a otros niños solos en la casa
- f. Otro

13. En caso afirmativo, ¿dónde buscó atención para [*nombre del niño*]?

[Los hospitales específicos incluidos en el sistema de vigilancia de rotavirus deben mencionarse por su nombre.]

- _____ Consultorio privado en su comunidad
- _____ Consultorio gubernamental o público en su comunidad
- _____ Farmacia
- _____ Departamento de consulta externa del hospital
- _____ Centro de urgencias del hospital
- _____ Amigo o pariente
- _____ Curandero

- ____ Hospital 1
- ____ Hospital 2
- ____ Hospital 3
- ____ Otro (especificar).....

14. Durante la enfermedad, ¿ingresó su niño a un hospital para tratamiento de la diarrea y la deshidratación? Sí No

15. En caso afirmativo, ¿a cuál hospital ingresó?
[Los hospitales específicos incluidos en el sistema de vigilancia de rotavirus deben mencionarse por su nombre.]

- ____ Hospital 1.....
- ____ Hospital 2
- ____ Hospital 3.....

16. ¿Recibió [*nombre del niño*] soluciones de rehidratación oral (SRO) durante su tratamiento? Sí No

17. En caso afirmativo, ¿se administró la primera SRO en la casa o en el consultorio/hospital?
_____ En el hogar _____ En el consultorio/hospital

18. ¿Recibió [*nombre del niño*] líquidos intravenosos durante su tratamiento? Sí No

19. Si [*nombre del niño*] no recibió atención en un hospital, ¿se le aconsejó a usted que lo llevara a un hospital? Sí No

20. En caso afirmativo, ¿por qué [*nombre del niño*] no se llevó a un hospital?

- a. El hospital estaba demasiado lejos del hogar
- b. No pudo encontrar transporte
- c. El costo del viaje era demasiado elevado
- d. El costo del tratamiento era demasiado elevado
- e. No podía dejar a otros niños solos en la casa
- f. Otro

21. ¿Han ingresado (pasado una noche) algunos de sus hijos en un hospital en esta zona para recibir tratamiento de diarrea y deshidratación en este año? Sí No

Parte B

Ahora voy a preguntarle lo que usted haría si [*nombre del niño*] sufriera de diarrea grave.

22. Si [*nombre del niño*] padeciera diarrea grave (más de 3 deposiciones acuosas sin sangre en un período de 24 horas) que durara menos de 14 días, ¿adónde lo llevaría para que lo atendieran?

- ____ Consultorio privado en su comunidad
- ____ Farmacia
- ____ Departamento de consulta externa del hospital

- Centro de urgencias del hospital
- Amigo o pariente
- Curandero
- Hospital de vigilancia (nombre)
- Otro (especificar)

23. Si, durante esta enfermedad, el niño presentara signos y síntomas de deshidratación, como irritabilidad, agitación, reducción del volumen de orina, más sed, sensación de sequedad en la boca u ojos hundidos, ¿adónde lo llevaría para que lo atendieran?

- Consultorio privado en su comunidad
- Consultorio gubernamental o público en su comunidad
- Farmacia
- Departamento de consulta externa del hospital
- Centro de urgencias del hospital
- Amigo o pariente
- Curandero
- Hospital de vigilancia (nombre)

24. Si, durante esta enfermedad, el niño también sufriera pérdida del conocimiento o letargia e incapacidad para beber, ¿adónde lo llevaría para que lo atendieran?

- Consultorio privado en su comunidad
- Consultorio gubernamental o público en su comunidad
- Farmacia
- Departamento de consulta externa del hospital
- Centro de urgencias del hospital
- Amigo o pariente
- Curandero
- Hospital de vigilancia (nombre)

25. Si un médico o una enfermera le recomendara que llevara a [*nombre del niño*] a un hospital para que lo atendieran, ¿usted podría hacerlo? Sí No

26. En caso negativo, ¿por qué no?

27. En caso afirmativo, ¿a cuál hospital lo llevaría?
[Los hospitales específicos incluidos en el sistema de vigilancia de rotavirus deben mencionarse por su nombre.]

- Hospital 1
- Hospital 2
- Hospital 3

28. Si un médico o una enfermera recomendará que [*nombre del niño*] pasara una noche en el hospital para recibir atención, ¿usted aceptaría la recomendación? Sí No

29. En caso negativo, ¿por qué no?

30. ¿Qué opina de la atención su niño quizá reciba en el hospital? [Los hospitales específicos incluidos en el sistema de vigilancia de rotavirus deben mencionarse por su nombre.]

a. Hospital 1	Excelente	Buena	Regular	Mala	No sabe
b. Hospital 2	Excelente	Buena	Regular	Mala	No sabe
c. Hospital 3	Excelente	Buena	Regular	Mala	No sabe

Muchas gracias por participar en nuestra encuesta.

Anexo 2: Cálculos del tamaño de la muestra

Los cálculos del tamaño de la muestra se basan en una fórmula estándar (Henderson y Sundaresan, 1982):

$$N_o = \frac{z^2 p q}{d^2}$$

donde N_o es el número de niños necesarios en la encuesta;

z es la desviación normal (1,96 para un alfa de 0,05);

p es la proporción de niños con diarrea grave que se espera que van a recibir tratamiento en el hospital;

$q = (1-p)$;

d es la precisión (error aceptable) del cálculo.

Dado que el valor de p es precisamente lo que la encuesta procura determinar, este es relativamente arbitrario. Para estos cálculos, p se ha fijado en 0,27 (o sea, 27%). El valor de d puede fijarse en 0,05, para indicar que aceptaremos una precisión de nuestro cálculo dentro de un 5%; es decir, que la proporción verdadera de niños con diarrea grave tratada en un hospital participante se sitúa entre 22% y 32%. Al incorporar estos cálculos en la ecuación se obtiene un tamaño de la muestra de 302. O sea, la muestra de los hogares debe ser lo bastante grande como para incluir a 302 niños que pueden padecer diarrea grave que tal vez dé lugar a la hospitalización.

Puesto que el diseño del estudio incluye muestreo por conglomerados, el efecto de este tipo de diseño se debe tener en cuenta en el tamaño de la muestra. El *efecto de diseño* tiene en cuenta la conglomeración posible de casos que se esperaría. Existen pocos datos que ayudarían a cuantificar este efecto respecto a las hospitalizaciones por rotavirus, aunque sin duda la utilización de servicios de salud puede ser similar dentro de hogares situados muy cerca unos de otros. En los presentes cálculos se ha adoptado un efecto de diseño de 2, que a menudo se usa cuando no se dispone de datos directos. Por consiguiente, en vez de 302, la encuesta requiere 604 niños. Para tener números iguales de niños de cada conglomerado este número se redondea a 600 para tener 20 por conglomerado.

Anexo 3: Tabla de números aleatorios

Método para elegir un número aleatorio del cuadro

1. Usando un billete, seleccione un número aleatorio de un solo dígito entre 0 y 9 para elegir una columna. Seleccione un número aleatorio de dos dígitos para elegir una fila (nótese que los números 01-09 cuentan como números de dos dígitos). El número de cinco dígitos que está en la intersección entre la columna y la fila es el punto de partida.
2. Lea hacia la derecha de esa fila desde el punto de partida hasta que encuentre un número aleatorio de cinco dígitos que es igual o inferior a su intervalo de muestreo.

	Columna									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Fila										
01	19289	93144	95340	30285	11083	88238	70387	97121	68924	78828
02	52013	34168	50026	63695	97161	76180	30119	21059	24233	19072
03	51923	17987	40495	36750	90764	84754	25504	69325	14494	28615
04	85188	35557	59556	17835	49317	30957	68224	83494	68361	63836
05	33865	60916	85080	61805	41162	64238	26199	77822	75933	61311
06	55811	82788	43985	16848	50340	87732	54580	58581	15339	98337
07	16650	86160	10382	65131	48434	38562	02875	99975	07213	27155
08	12800	48589	80380	74042	25345	70783	58110	47579	38287	63004
09	36653	03457	17568	23186	79328	35509	63547	46628	64067	76684
10	27238	05858	46983	49613	96575	57242	32000	82228	20696	67929
11	03769	63510	21463	16059	89100	64232	70747	97079	18500	47826
12	36094	09879	80907	78051	30458	01722	91738	55742	61922	86259
13	47274	65956	41027	89573	59260	41175	45136	94124	47732	01105
14	06728	25795	54919	80457	25401	63698	93399	59861	35281	58867
15	18067	74766	10773	13910	32803	51406	70427	78357	45716	24485
16	28519	10640	92569	17874	30560	14098	67406	93728	53203	78583
17	84332	32264	01524	93786	00692	79817	80680	74503	95874	94716
18	55310	08997	52383	39182	16561	68922	29334	70000	45258	58807
19	42341	75993	97579	07503	65899	15260	25739	56852	52541	89205
20	96644	54398	49707	40193	52321	95949	51268	54025	38083	03049
21	20644	04581	37056	26382	35641	29688	44475	42118	01100	81046
22	46537	56716	35108	37190	78569	86025	92893	88353	22636	88374
23	50543	29533	46259	37429	71060	36121	04913	37496	97095	71557
24	38658	41814	32171	76513	89135	39217	07240	82646	10085	26858
25	20054	42726	57198	90448	20618	28893	19375	17367	56035	07123

El Departamento de Vacunas y Productos Biológicos fue establecido por la Organización Mundial de la Salud en 1998 para operar dentro del Conglomerado de Tecnología de la Salud y Productos Farmacéuticos. La meta principal del Departamento es el logro de un mundo en el cual todas las personas en riesgo estén protegidas contra las enfermedades prevenibles mediante vacunación.

Cinco grupos ponen en práctica su estrategia, que comienza con el establecimiento y el mantenimiento de normas, centrándose en cuestiones importantes de vacunas y tecnología, y termina con la ejecución y la orientación para los servicios de inmunización. La labor de los grupos se esboza a continuación.

El equipo de Garantía de la Calidad y Seguridad de los Productos Biológicos vela por la calidad y la seguridad de vacunas y otros medicamentos biológicos mediante la elaboración y el establecimiento de normas mundiales.

La Iniciativa para la Investigación en Vacunas y sus tres equipos que trabajan en el campo de las

enfermedades víricas, bacterianas y parasitarias coordinan y facilitan la investigación y elaboración de nuevas vacunas y tecnologías relacionadas con la inmunización.

El equipo de Evaluación y Vigilancia de Vacunas evalúa estrategias y actividades para reducir la morbilidad y mortalidad causadas por enfermedades prevenibles mediante vacunación.

El equipo de Acceso a Tecnologías procura reducir las barreras financieras y técnicas que se oponen a la introducción de nuevas vacunas y tecnologías establecidas relacionadas con la inmunización.

El Programa Ampliado de Inmunización elabora políticas y estrategias para maximizar el uso y el suministro de vacunas importantes para la salud pública. Apoya las regiones y los países de la OMS en la obtención de aptitudes, competencia e infraestructura necesarias para ejecutar estas políticas y estrategias, y en el logro del control de enfermedades y/o los objetivos de eliminación y erradicación.



Departamento de Vacunas y Productos Biológicos

Tecnología de la Salud y Productos Farmacéuticos

Organización Mundial de la Salud

CH-1211 Ginebra 27

Suiza

Fax: +41 22 791 4227

Correo electrónico: vaccines@who.int

O visite nuestro sitio en la Web en: <http://www.who.int/vaccines-documents>